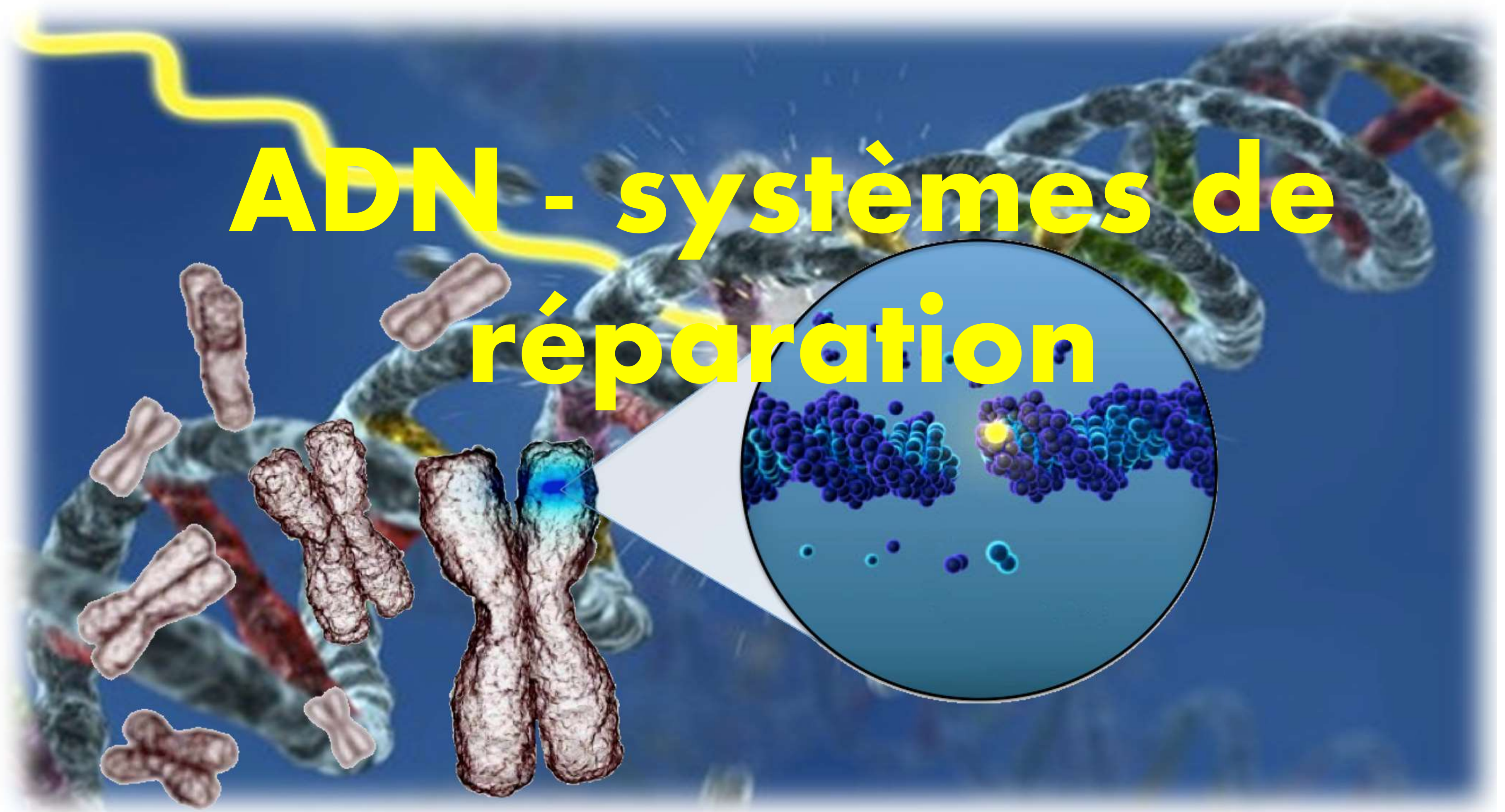
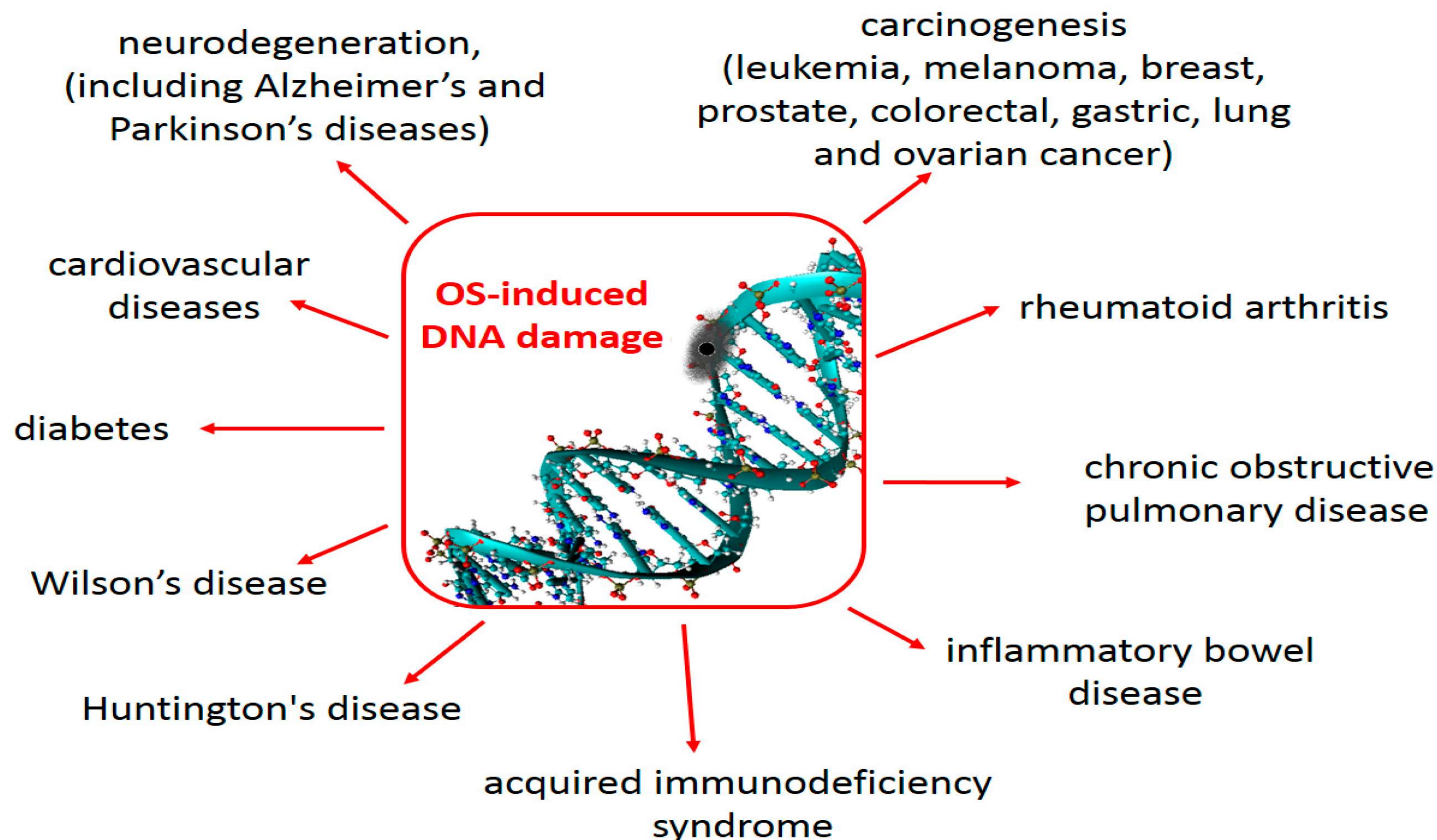

ADN - systèmes de réparation


neurodegeneration, (including Alzheimer’s and Parkinson’s diseases)
carcinogenesis (leukemia, melanoma, breast, prostate, colorectal, gastric, lung and ovarian cancer)
cardiovascular diseases
OS-induced DNA damage
rheumatoid arthritis
diabetes
chronic obstructive pulmonary disease
Wilson’s disease
inflammatory bowel disease
Huntington's disease
acquired immunodeficiency syndrome

DNA lesions induced by damaging agents. Several DNA lesions are formed upon the exposure of the DNA to harmful insults. Replication errors can give rise to insertion, deletion, or base mismatch mutations. Alkylating agents and reactive oxygen species (ROS) can lead to the formation of abasic sites, single-strand breaks (SSB), and 8-oxoguanines. On the other hand, UV radiation and chemical agents mediate the formation of pyrimidine dimers and the addition of bulky adducts. Finally, ionizing radiation including X-rays and antitumor drugs can lead to single-strand breaks and double-strand breaks, together with inter- and intrastrand cross-links. ROS: reactive oxygen species; SSB: single-strand breaks; DSB: double-strand breaks; IR: ionizing radiation.

Les six grands systèmes de réparation

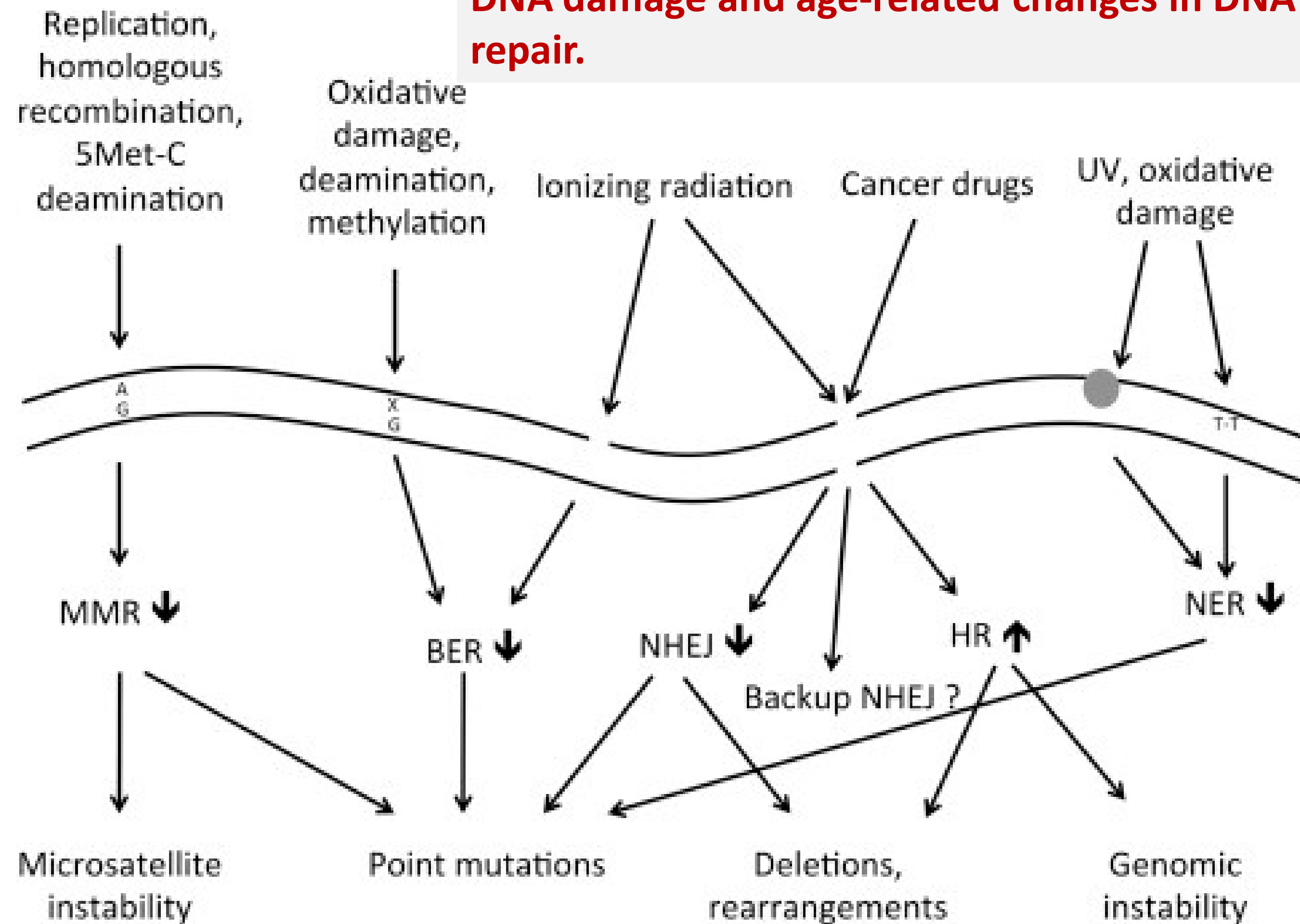
Ces stress induisent des modifications chimiques des bases nucléiques de l'ADN, des cassures simple brin de l'ADN, des pontages intrabrins et interbrins, des pontages ADN protéines et finalement des cassures double brin de l'ADN détruisant ainsi l'intégrité du chromosome.

Pour répondre à ces stress, la cellule a développé des systèmes complexes lui permettant de sonder son ADN et, si nécessaire, de le réparer.

Six grands systèmes de réparation existent au sein des cellules vivantes :

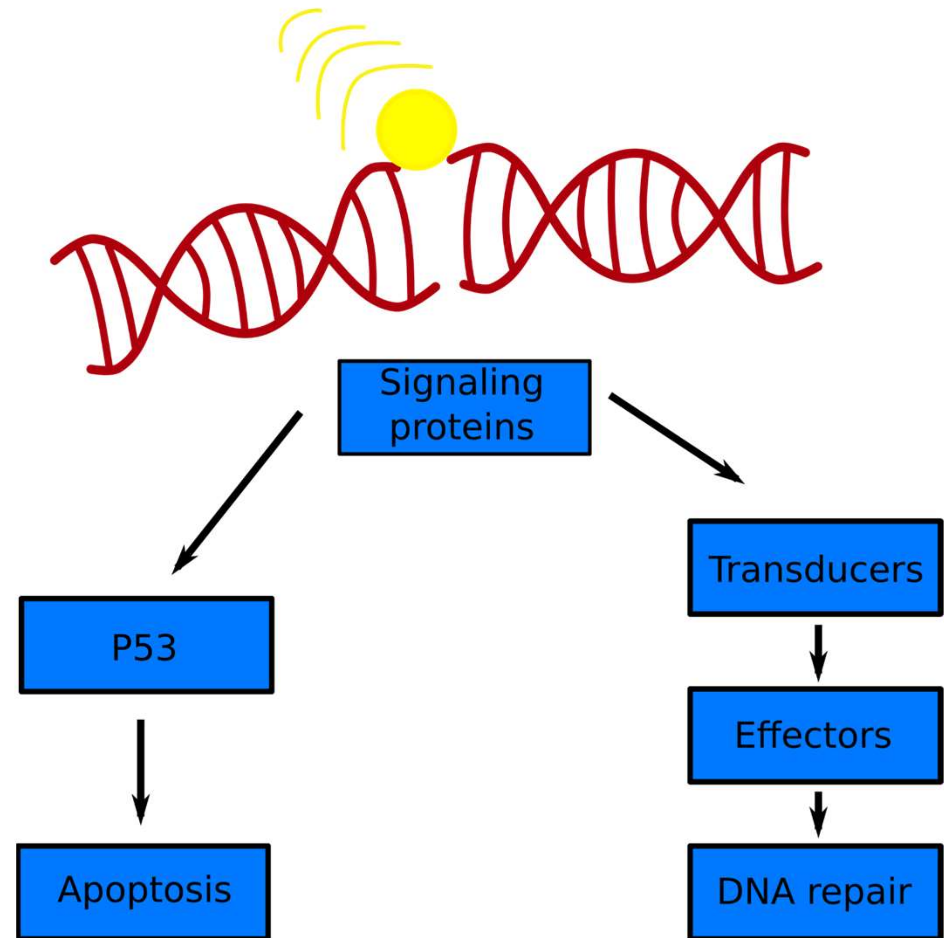
1. **La réparation directe de la lésion (photolyase pour les dimères de thymine, méthyltransférases pour m6G, m1A, m3C),**
2. **La réparation par excision de base ou base excision repair (BER),**
3. **La réparation par excision de nucléotides =nucleotide excision repair (NER),**
4. **La réparation des mésappariements ou mismatch repair (MMR),**
5. **La réparation par jonction d'extrémités non homologues (NHEJ),**
6. **La réparation par recombinaison homologue.[HR]**

DNA damage and age-related changes in DNA repair.



Different DNA-damaging agents that cause different types of DNA damage are listed on top, the repair pathways responsible to fix them in the middle and possible consequences of their dysfunction on the bottom. *Arrows next to the repair pathways* indicate functional decline with age.
The *gray circle* indicates DNA damage in the form of bulky adducts.

A simple schematic of the DNA damage response to a double strand break. The signaling proteins, here MRE11, RAD50 and NBS1, start the two pathways.
One path leads to apoptosis, one part leads to DNA repair.
Naturally, the recruitment time of the MRE11, RAD50 and NBS11 is important for the time scale of the repair process, and to calculate the recruitment time, a mean of transportation of the repair proteins need to be decided. Here the passive transport method of diffusion is chosen to study the recruitment.

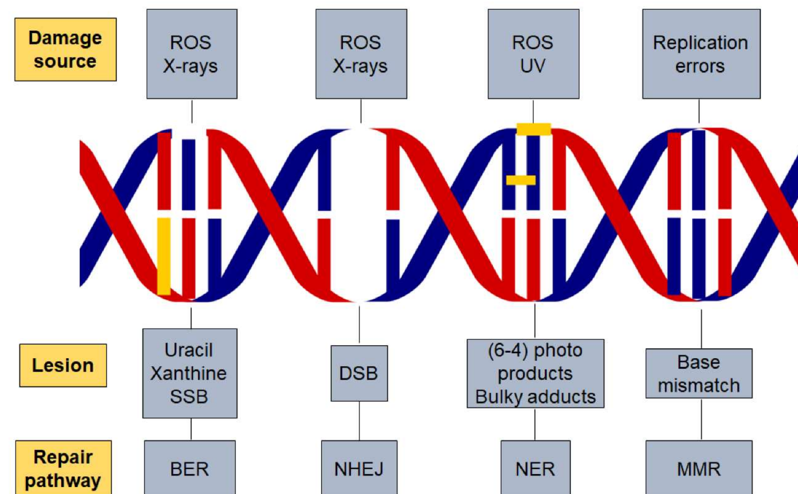


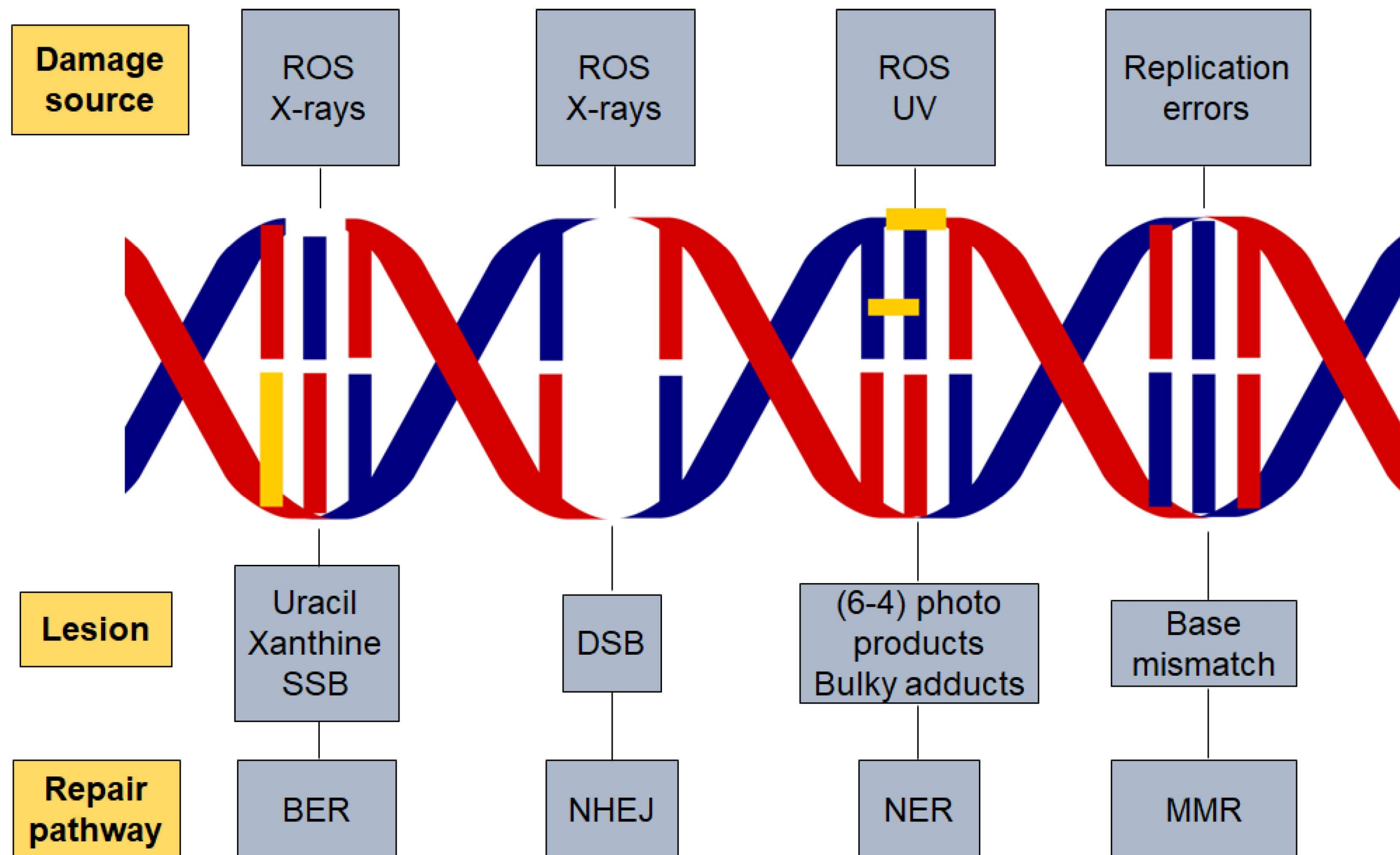
DNA lesions	Pyrimidine dimers	DNA adducts DNA crosslinks Crosslink (interstrand) Crosslink (intrastrand) DNA adducts	Base oxidation Base hydrolysis Base damage OH	Single strand breaks	Double strand breaks	Replication error
Common cause	UV	carcinogens	ROS, UV, high temperature	ionizing radiation	ionizing radiation ROS stalled replication forks	inherent in replication
Mechanisms of repair	NER	NER	BER	BER	HR NHEJ	MMR
Germline defect associated with cancer predisposition	*XPC* skin basal and squamous cell carcinoma		*MUTYH* colorectal cancer		HR: *BRCA1/BRCA2* breast and ovarian cancer	*MSH2, MLH1* colorectal and endometrial carcinoma

TABLE 11.1 **Genes involved in the UvrABC endonuclease repair pathway**

Gene	Function of gene product
uvrA	DNA-binding protein
uvrB	Loaded by UvrA to form a DNA complex; nicks DNA 3′ of lesion
uvrC	Binds to UvrB-DNA complex; nicks DNA 5′ of lesion
uvrD	Helicase II; helps remove damage-containing oligonucleotide
polA	Pol I; fills in single-strand gap
lig	Ligase; seals single-strand nick

DNA damage and repair pathways. Different factors are responsible for initiating DNA damage such as radiation and reactive oxygen species which cause several types of lesions in the DNA double helix. The repair pathway involved in the process is dependent on the damaging agent and lesion generated. Base excision repair (BER), nucleotide excision repair (NER), non-homologous end joining (NHEJ), reactive oxygen species (ROS) and DNA mismatch repair (MMR).



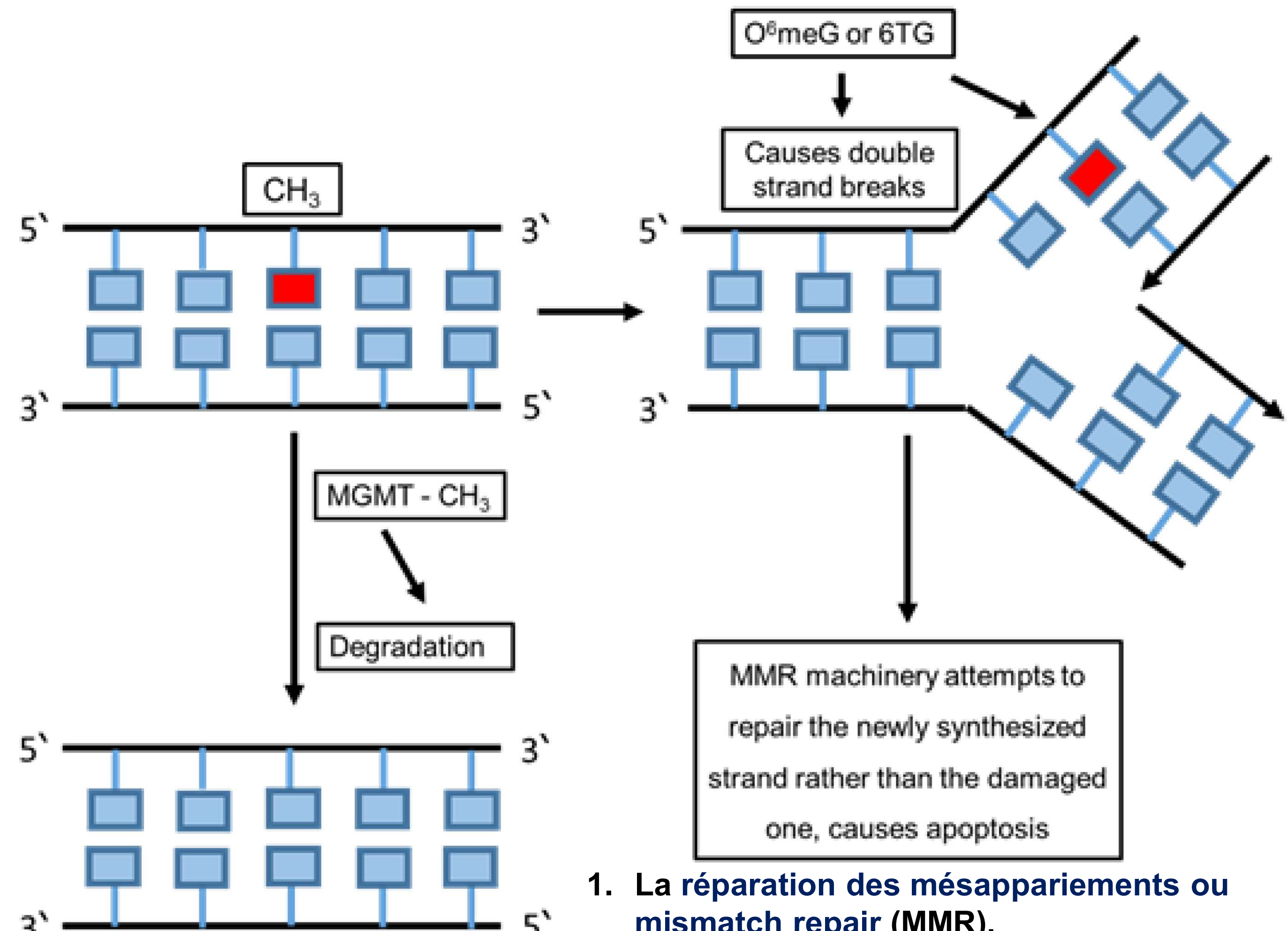


Damage source
ROS
X-rays
ROS
X-rays
ROS
UV
Replication errors
Lesion
Uracil
Xanthine
SSB
DSB
(6-4) photo products
Bulky adducts
Base mismatch
Repair pathway
BER
NHEJ
NER
MMR

MUTAGENIC SOURCE	Oxygen radicals Intercellular reactions Alkylating agents Ionizing radiation	UV light Crosslinking agents	Replication errors	Replication stress Alkylating agents Ionizing radiation		Crosslinking agents
DNA LESION	Base modifications, Abasic sites	Intra-strand crosslinks Bulky adducts (CPDs, 6-4PPs)	Mismatches Indels	Double strand breaks (DSBs)		Inter-strand crosslinks
REPAIR PATHWAY	Base Excision Repair (BER)	Nucleotide Excision Repair (NER)	Mismatch Repair (MMR)	Homologous Recombination (HR)	Non-Homologous End Joining (NHEJ)	Fanconi Anemia (FA)
CANCER SYNDROMES	Not yet reported	Xeroderma Pigmentosum ERCC6L2 Deficiency	Constitutional MMR Syndrome	Ataxia Telangiectasia Nijmegen Breakage Bloom Syndrome Rothmund-Thompson	Ligase IV Deficiency XLF/NHEJ1 Deficiency Rothmund-Thompson Werner Syndrome	Fanconi Anemia

Direct DNA repair pathway.

The schematic figure summarizes the direct repair mechanism after the damage on the template DNA strand. This type of repair leads to exclusion of DNA and RNA damage using chemical reversion that does not need a nucleotide template and breakage of the phosphodiester backbone or DNA synthesis.

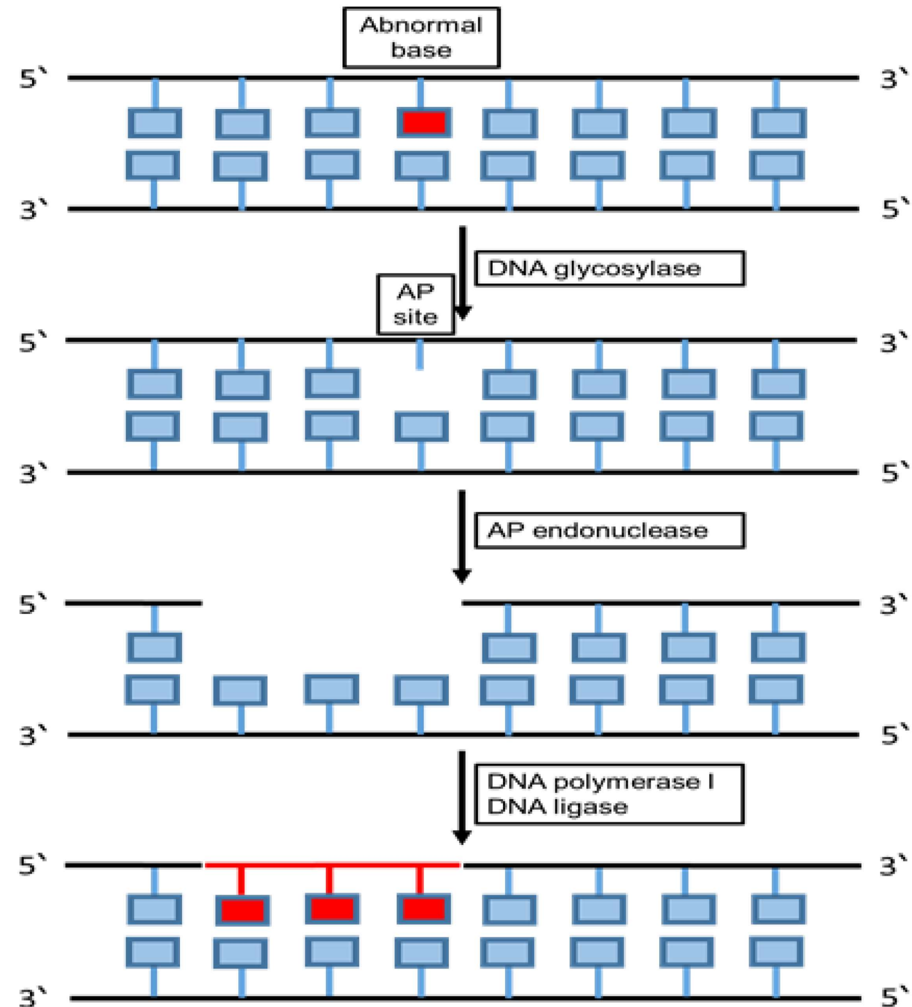


1. La **réparation des mésappariements ou mismatch repair (MMR).**

Base excision repair pathway.

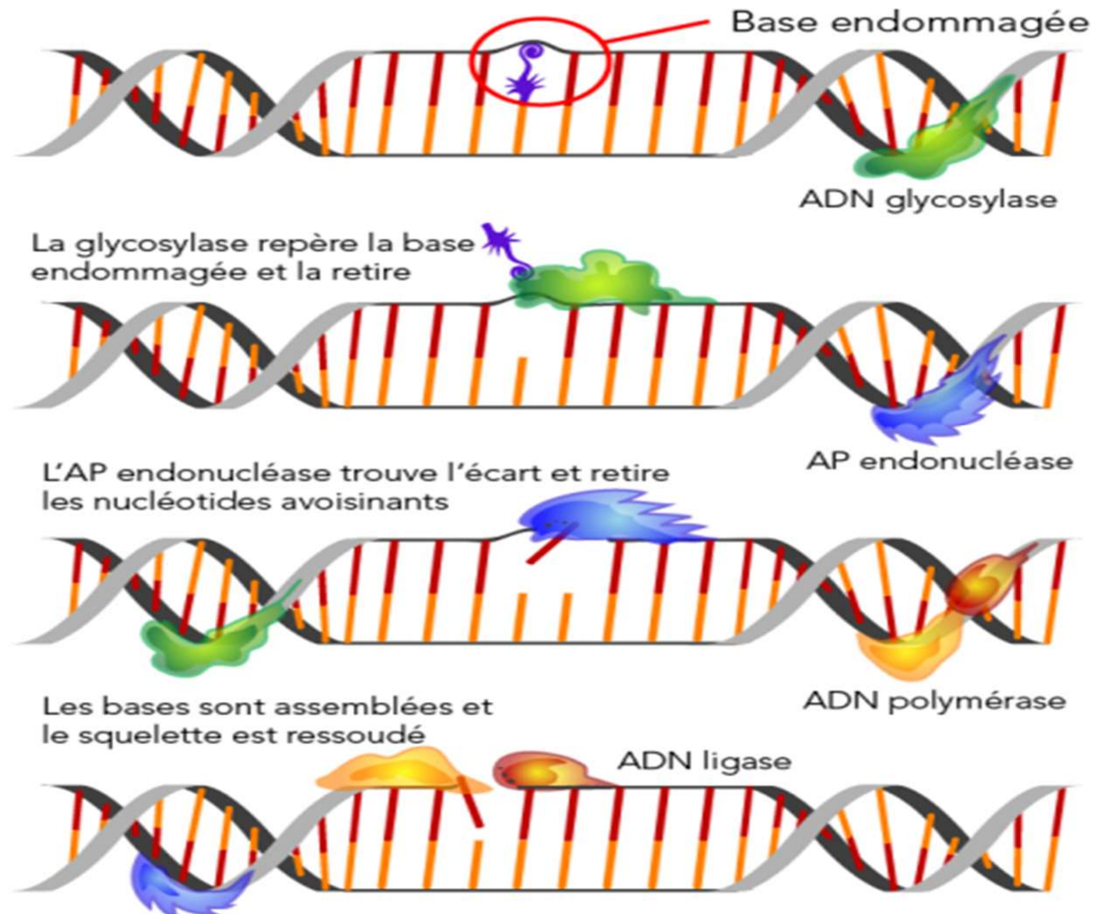
The schematic diagram summarizes the main components and the mechanism of the base excision repair (BER) pathway.
This repairing pathway removes and replaces the faulty DNA segment with a new segment through allowing the cells to eliminate part of a damaged DNA strand and substitute it through DNA synthesis using the undamaged strand as a template.

- **La réparation par excision de base ou base excision repair (BER),**



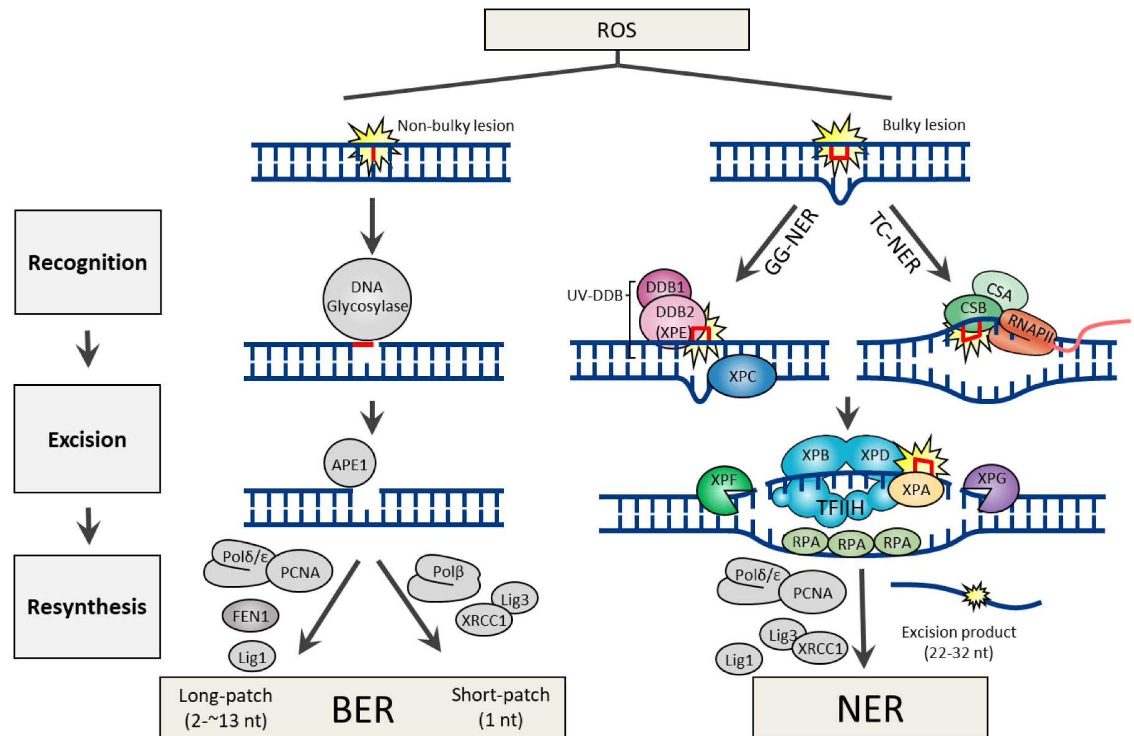
La réparation par excision de base est l'une des plus simples formes de réparation de l'ADN

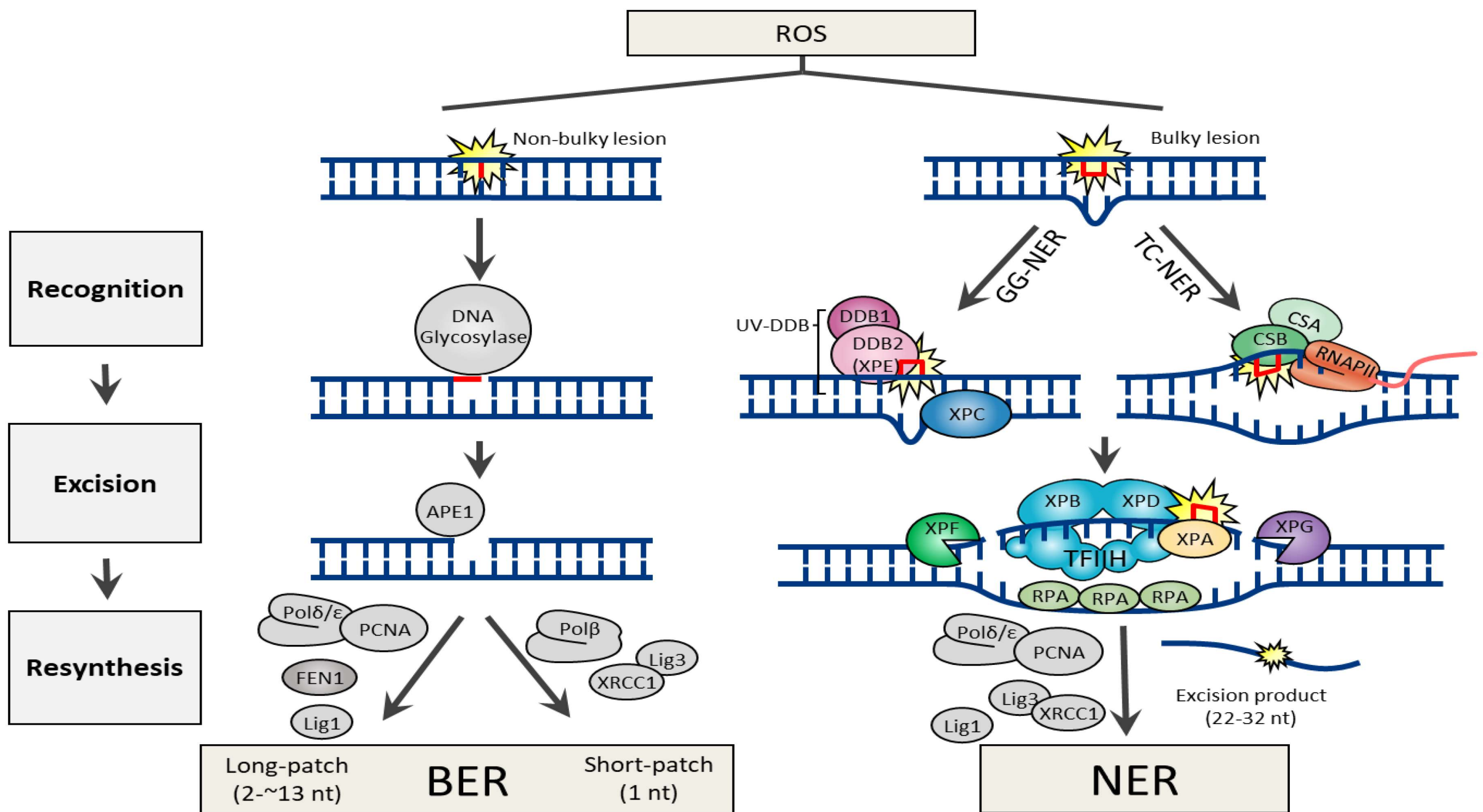
Tout d'abord, une enzyme appelée **ADN glycosylase** retire la partie endommagée. Puis, une enzyme appelée **AP endonucléase** repère la brèche dans le squelette sucre-phosphate et retire les nucléotides avoisinants. Ensuite, l'**ADN polymérase** assemble la base manquante et, en dernier lieu, l'**ADN ligase** ressoude le squelette sucre-phosphate.



Les dommages s’étendent parfois sur une série de bases. En l’occurrence, les enzymes ne retireront pas des bases individuelles pour les remplacer. Elles extrairont plutôt le segment d’ADN endommagé dans son intégralité en vue de leur remplacement.

On appelle ce processus la **réparation par excision de nucléotides** (**NER** pour *Nucleotide Excision Repair* en anglais)**.**





ROS
Non-bulky lesion
Bulky lesion
Recognition
Excision
Resynthesis
DNA Glycosylase
APE1
GG-NER
TC-NER
UV-DDB
DDB1
DDB2 (XPE)
XPC
CSA
CSB
RNAPII
XPB
XPD
XPF
XPA
XPG
TFIIH
RPA
RPA
RPA
Polδ/ε
PCNA
FEN1
Lig1
Polβ
Lig3
XRCC1
Polδ/ε
PCNA
Lig3
XRCC1
Lig1
Excision product (22-32 nt)
Long-patch (2-~13 nt)
BER
Short-patch (1 nt)
NER

Mechanism and Steps of NER:

NER enzymes commonly recognize the **damage produced on DNA involving thymine dimers caused due to UV radiation** and **benzopyrene** - guanine adducts caused due to **smoking.**

This repair mechanism almost **removes and replaces 30 bases in a length of damaged DNA**.

The general mechanism of NER includes the following steps such as;

- 1- Recognition of DNA damage: The UV radiation produces damage on the DNA to form thymine-thymine dimers and other bulky adducts formed by aromatic mutagenic compounds.
- 2-Removal of fragments of DNA:The DNA is unwinded by specific enzymes having helicase activity. Specific damaged regions on DNA are recognized by specific enzymes. The regions near the damage are excised.
- 3- DNA synthesis:The removed nucleotides are added by the enzyme DNA polymerase I.
- 4- DNA ligation:An enzyme DNA ligase seals the damaged DNA regions.

In prokaryotes: In prokaryotes such as bacteria, the repair pathway is initiated by the UvrABC endonuclease complex.

Mechanism of NER:

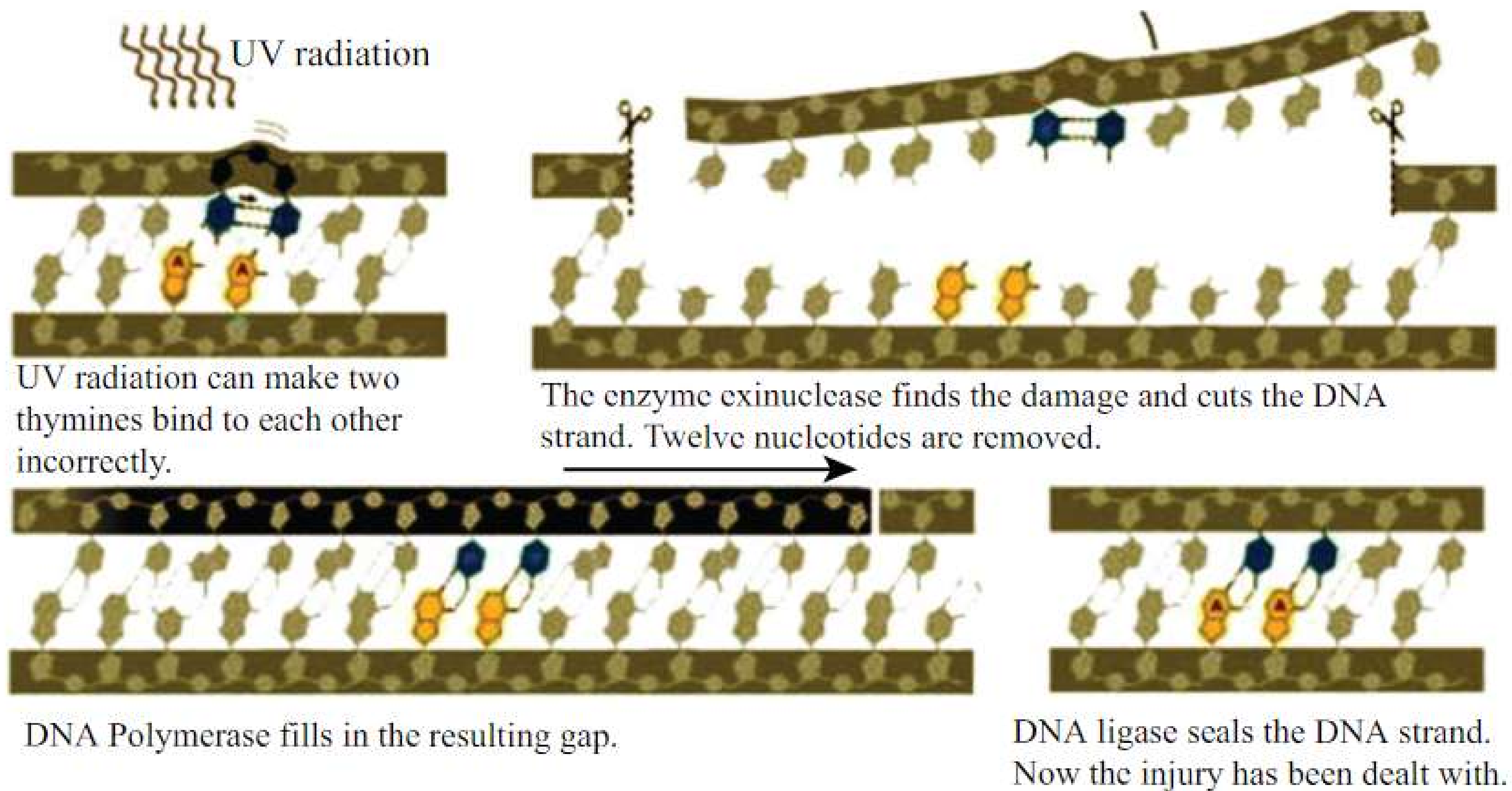
In prokaryotes: In prokaryotes such as bacteria, the repair pathway is initiated by the UvrABC endonuclease complex.
UvrABC endonuclease complex has four key enzymes namely **UvrA, UvrB, UvrC, and UvrD**.

The word Uvr represents ultraviolet radiation.

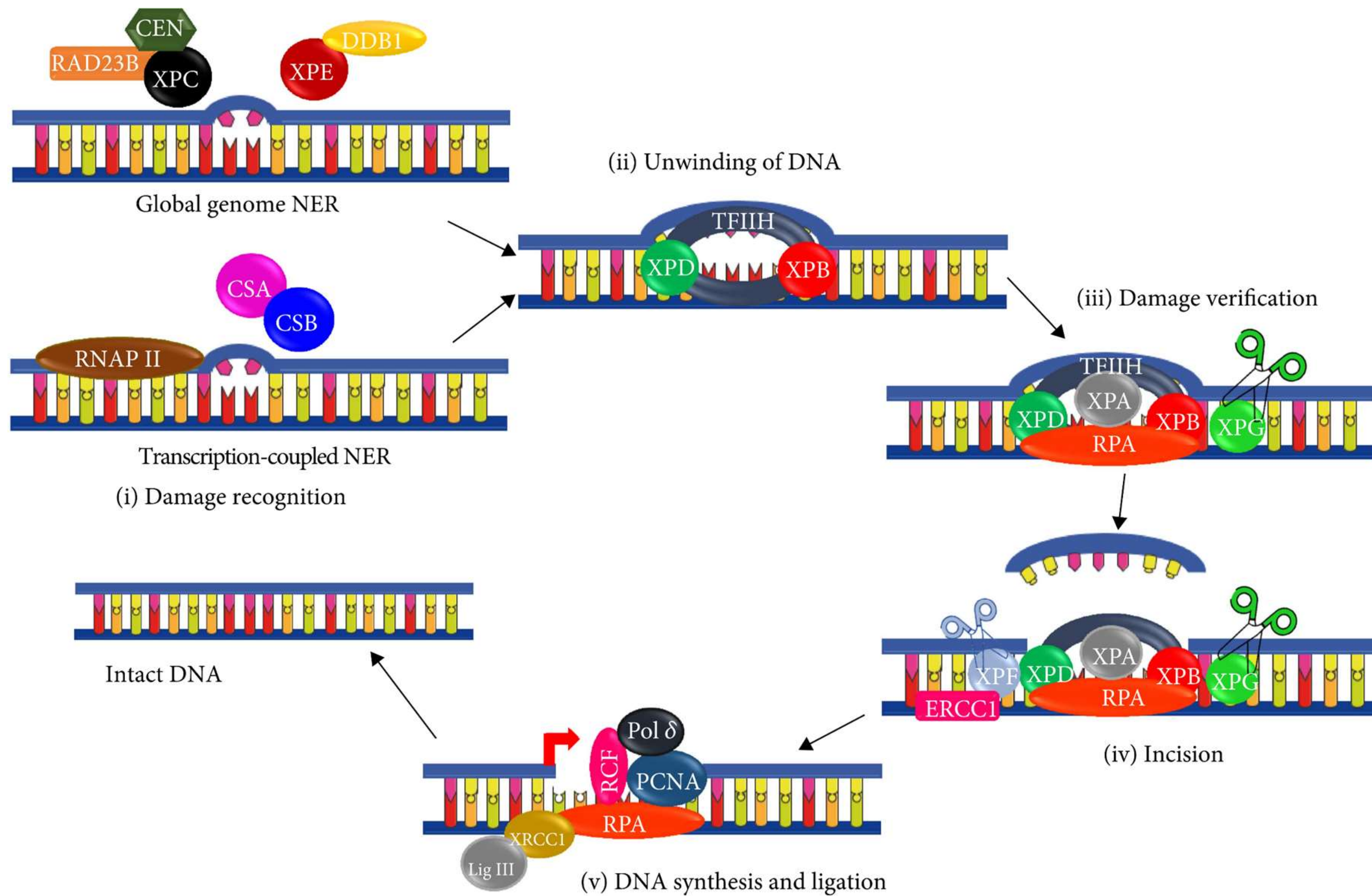
- UvrD has helicase activity which unwinds the double-helical strand.
- The UvrA recognizes the damaged DNA.
- The UvrB and UvrC are involved in eliminating the nucleotides that are damaged on the DNA strand.

These enzymes are a **special type of endonucleases** that cuts two phosphodiester bonds simultaneously.
Enzyme **DNA polymerase-I** fill the gap by adding new nucleotides after removal of the damaged ones.
The enzyme **DNA ligase** forms the phosphodiester bond resealing the nicks on the DNA strand.

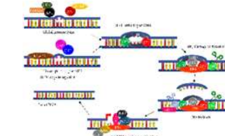
NER



UV radiation
UV radiation can make two thymines bind to each other incorrectly.
The enzyme exinuclease finds the damage and cuts the DNA strand. Twelve nucleotides are removed.
DNA Polymerase fills in the resulting gap.
DNA ligase seals the DNA strand. Now the injury has been dealt with.


CEN
DDB1
RAD23B
XPC
XPE
Global genome NER
(ii) Unwinding of DNA
TFIIH
XPD
XPB
CSA
CSB
RNAP II
Transcription-coupled NER
(i) Damage recognition
(iii) Damage verification
TFIIH
XPA
XPD
XPB
XPG
RPA
Intact DNA
XPA
XPF
XPD
XPB
XPG
RPA
ERCC1
(iv) Incision
Pol δ
RCF
PCNA
RPA
XRCC1
Lig III
(v) DNA synthesis and ligation

Schematic representation of nucleotide excision repair. Recognition of DNA damage differs between transcription-coupled NER (TC-NER) and global genome NER (GG-NER). (1) Damage Recognition. In TC-NER, the stalled RNA polymerase in transcriptionally active genes favors the recruitment of Cockayne syndrome proteins A and B (CSA and CSB). In GG-NER, the damage is recognized by XPC and its partners RAD23B (Rad 23 homologue B) and CEN (centrin 2) if it is a helix-distorting lesion. A mild distorting lesion in this subpathway is recognized by XPE and DDB1 (DNA damage-binding protein 1). The following steps are the same for both GG-NER and TC-NER. (2) DNA unwinding. TFIIH is recruited and it contains XPB and XPD helicases that catalyze the opening of the DNA. (3) Damage verification. XPA, XPG, and RPA1 are recruited. XPA verifies the DNA damage while RPA1 binds to the single-stranded DNA. (4) Incision. XPF that is in a complex with ERCC1 is recruited. Both XPF and XPG are nucleases that catalyze the incision of 5 and 3 of the damage, respectively. (5) DNA synthesis and ligation. The missing DNA sequence is synthesized by polymerase delta with the assistance of PCNA, RCF, and RPA1. DNA ligase 3 interacting with XRCC1 ligates the produced fragment leading to the formation of intact DNA. It should be noted that XPF-ERCC1 mediates the incision at the 5 end and then the polymerase with PCNA, RCF, and PCNA will aid in displacing the damaged strand to be finally followed by the incision at the 3 end by XPG. XPA-XPG: xeroderma pigmentosum protein A-G; NER: nucleotide excision repair; TC-NER: transcription-coupled nucleotide excision repair; GG-NER: global genome nucleotide excision repair; CSA and CSB: Cockayne syndrome proteins A and B; DDB1: DNA damage-binding protein 1; RAD23B: RAD 23 homologue B; Cen: centrin 2; TFIIH: transcription factor II H; RPA1: replication protein A; ERCC1: excision repair cross-complementation group 1; PCNA: proliferating cell nuclear antigen; RCF: replication factor C; Polδ: polymerase delta; LIG3: DNA ligase 3; XRCC1: X-ray repair cross-complementing protein 1.



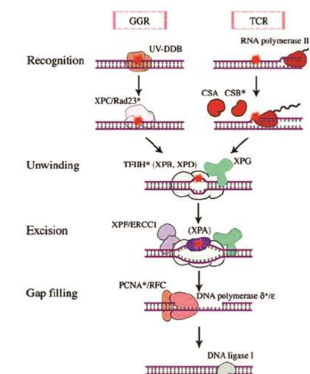
In Eukaryotes:

In eukaryotes,there are two NER pathways:

•**Global genomic Nucleotide Excision Repair GG-NER:** The GG-NER recognizes all the damaged regions on the DNA. This process is initiated by XPC-RAD23B which recognizes the damage on the DNA. XPC-RAD23B opens DNA along with XPB subunit that allows XPD to recognize the chemical modification that caused the damage. XPB having helicase activity is recruited which unwinds the strands.

•**Transcription coupled nucleotide excision repair TC-NER**: The TC-NER identifies only particular regions on the transcriptionally active genes. TC-NER initiates factors such as CSA, CSB, and XAB2 recognizing the strands on the DNA. XPG is a helicase protein that unwinds the strands.

•**Common pathway:** Both GG-NER and TC-NER have a common pathway for excision and gap filling. The unwinding of DNA recruits the proteins XPA to the damaged site. XPA is an endonuclease that creates an incision at a point near the damage. The addition of new nucleotides is carried out by enzymes such as Pol δ and Pol κ and Pol ε. The repaired region is sealed by enzyme DNA ligase.

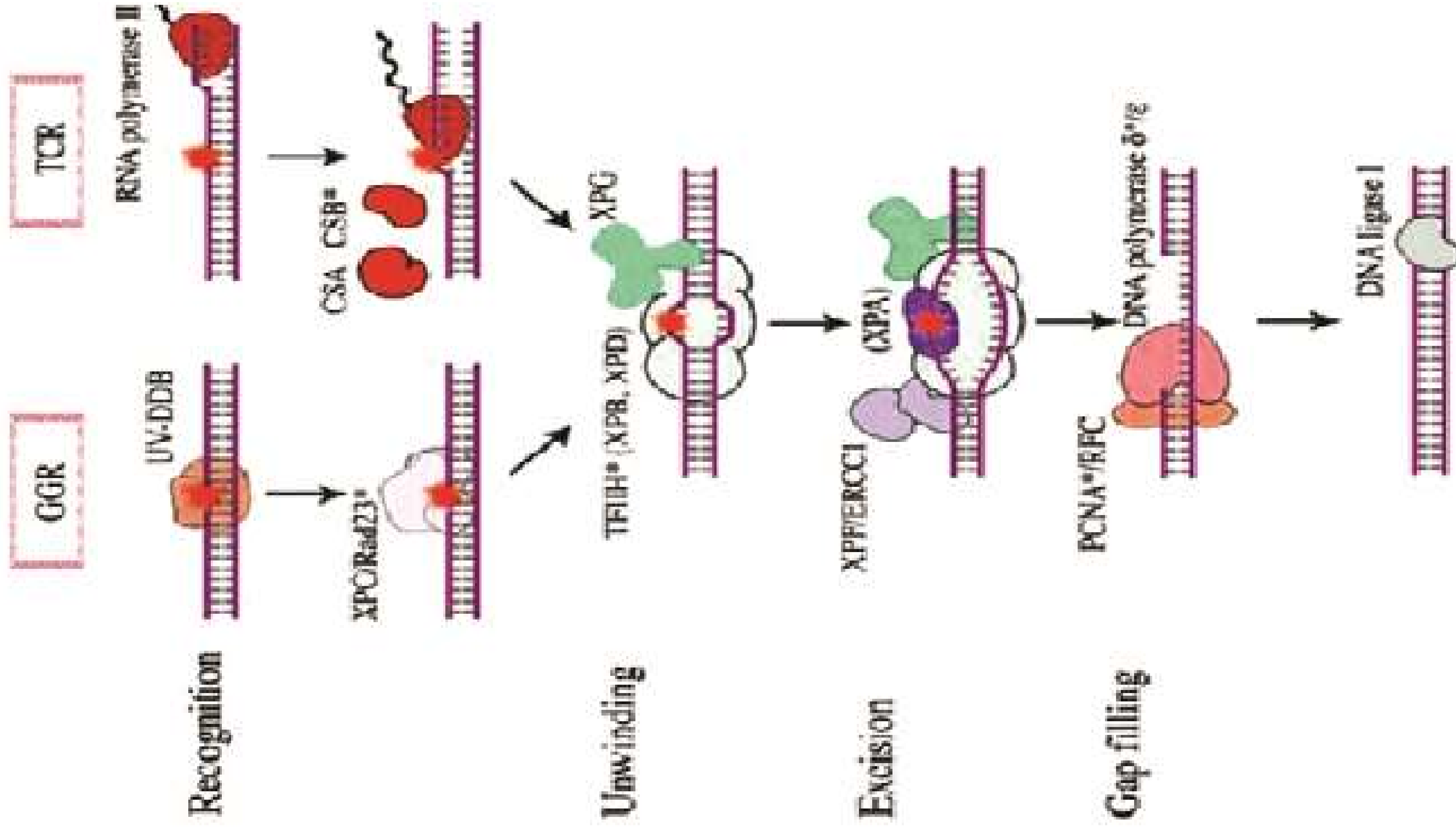


Deficiency Associated Nucleotide Excision Repair Mechanism:

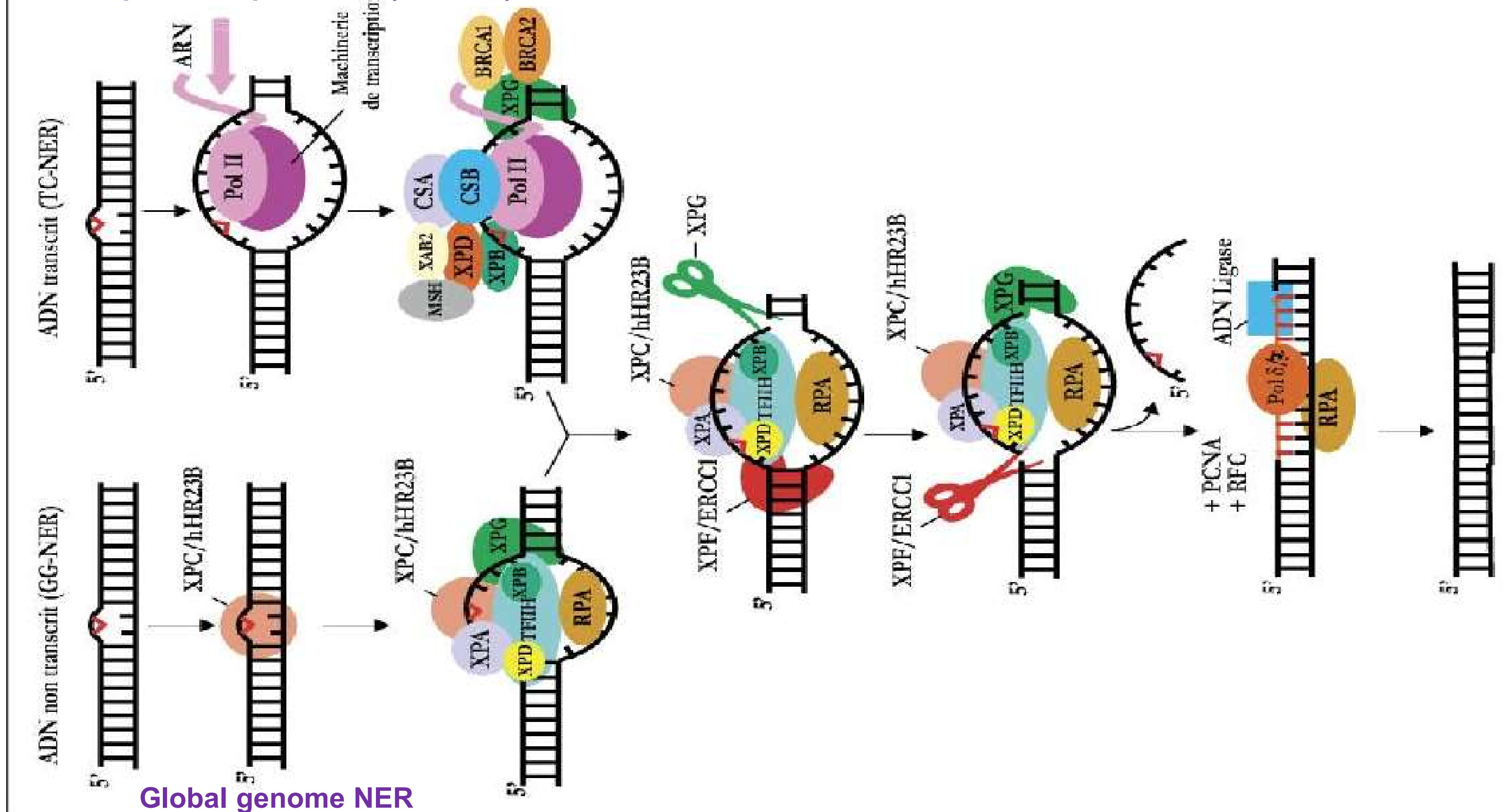
•The genetic mutations associated with NER lead to conditions called Xerodermapigmentosum and Cockayne's syndrome. Both conditions occur due to UV light exposure which is associated with the lack of NER repair mechanism of DNA.

•Xerodermapigmentosa is an autosomal recessive genetic disorder. The symptoms include xeroderma□dry skin□, skin pigmentation in exposed areas, sunburn, cataracts, seizures,and skin cancer.

•Cockayne syndrome is an autosomal recessive neurodegenerative disorder. It shows symptoms such as photo sensitivity, premature aging, impaired nervous functions, and leukodystrophies.



GGR
TCR
Recognition
UV-DDB
RNA polymerase II
XPC/Rad23*
CSA CSB*
Unwinding
TFIIH* (XPB, XPD)
XPG
Excision
XPF/ERCC1
(XPA)
Gap filling
PCNA*/RFC
DNA polymerase δ*/ε
DNA ligase I

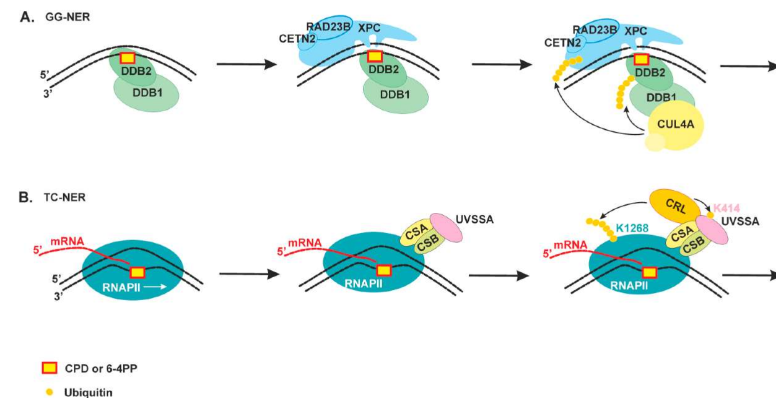


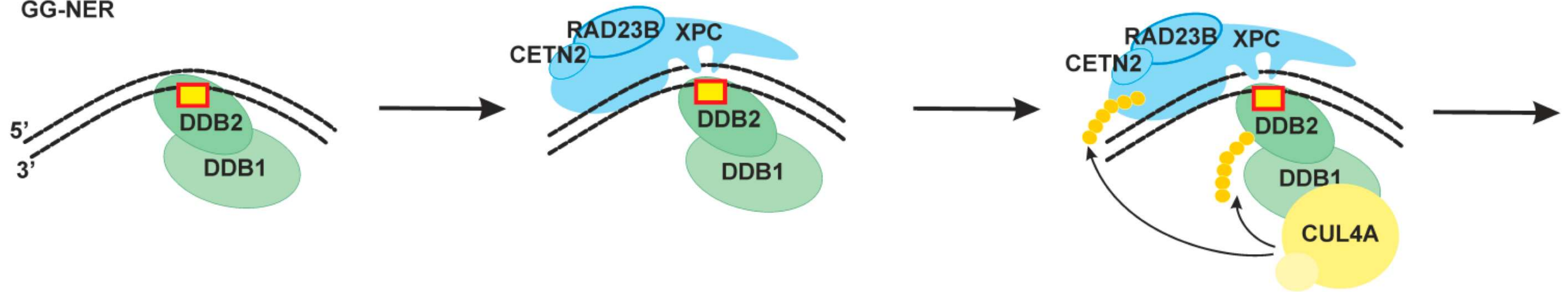
Transcription-coupled NER (TC-NER)
ADN transcrit (TC-NER)
ARN
Pol II
Machinerie de transcription
BRCA1
BRCA2
XPG
CSA
CSB
XAB2
XPD
XPB
MSH
ADN non transcrit (GG-NER)
XPC/hHR23B
XPA
TFIIH
RPA
XPF/ERCC1
ADN Ligase
Pol δ/ε
+ PCNA
+ RFC
5'
Global genome NER

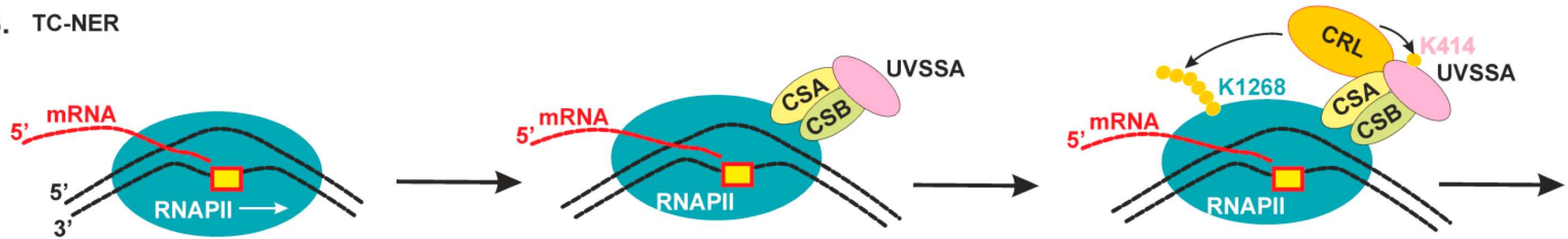
An overview of the damage recognition step of nucleotide excision repair (NER).

(A) **Global genome NER (GG-NER)** can search for damage anywhere in the genome throughout the cell cycle. The UV-DDB protein recognizes CPD or 6-4PP, directly binds to it through its DDB2 subunit, and facilitates efficient recognition of the lesion by the XPC–RAD23B–CETN2 complex. The DDB1 subunit is also a connector protein for ubiquitin ligase CUL4, which ubiquitinates DDB2 and XPC [33].

(B) (**B**) **Transcription-coupled NER (TC-NER)** is responsible for accelerated repair of lesions in the template DNA strand of actively transcribed genes only. The CSB protein and then proteins CSA and UVSSA bind to DNA damage stalled RNAPII. CSB and CSA associate with CRL ubiquitin ligase and contribute to the ubiquitination of the RNAPII RPB1 subunit at K1268. This ubiquitination stimulates the association of TFIIH with the stalled RNAPII through a transfer mechanism that also involves UVSSA-K414 ubiquitination [9,35].

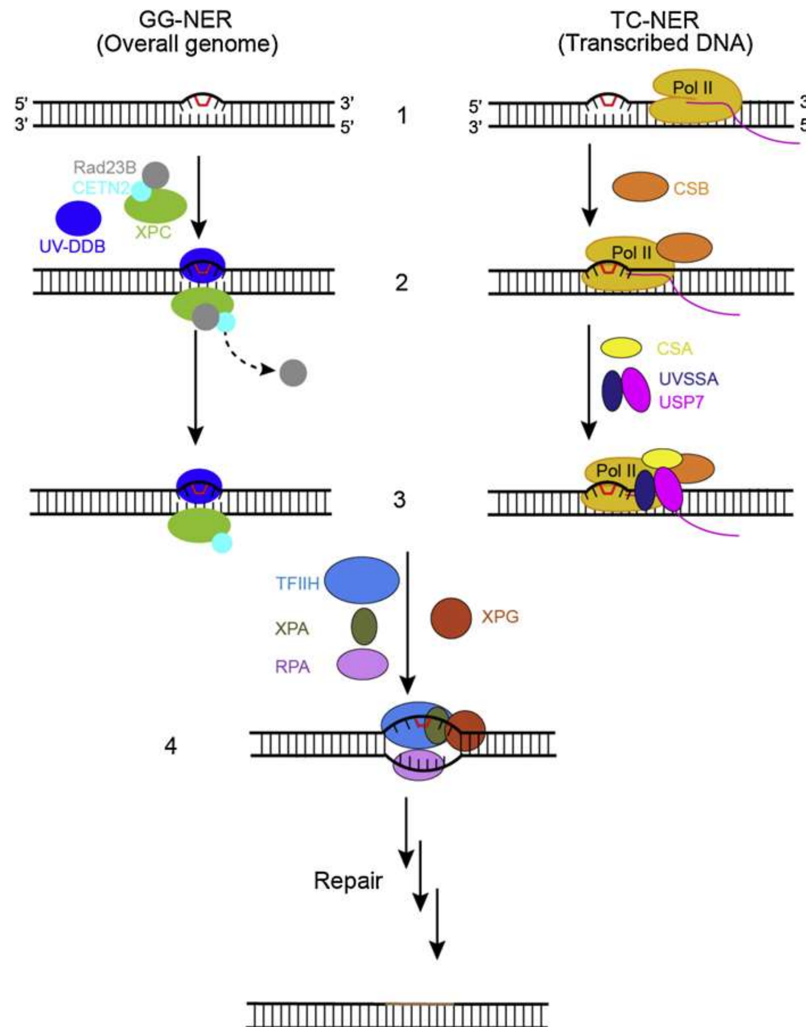




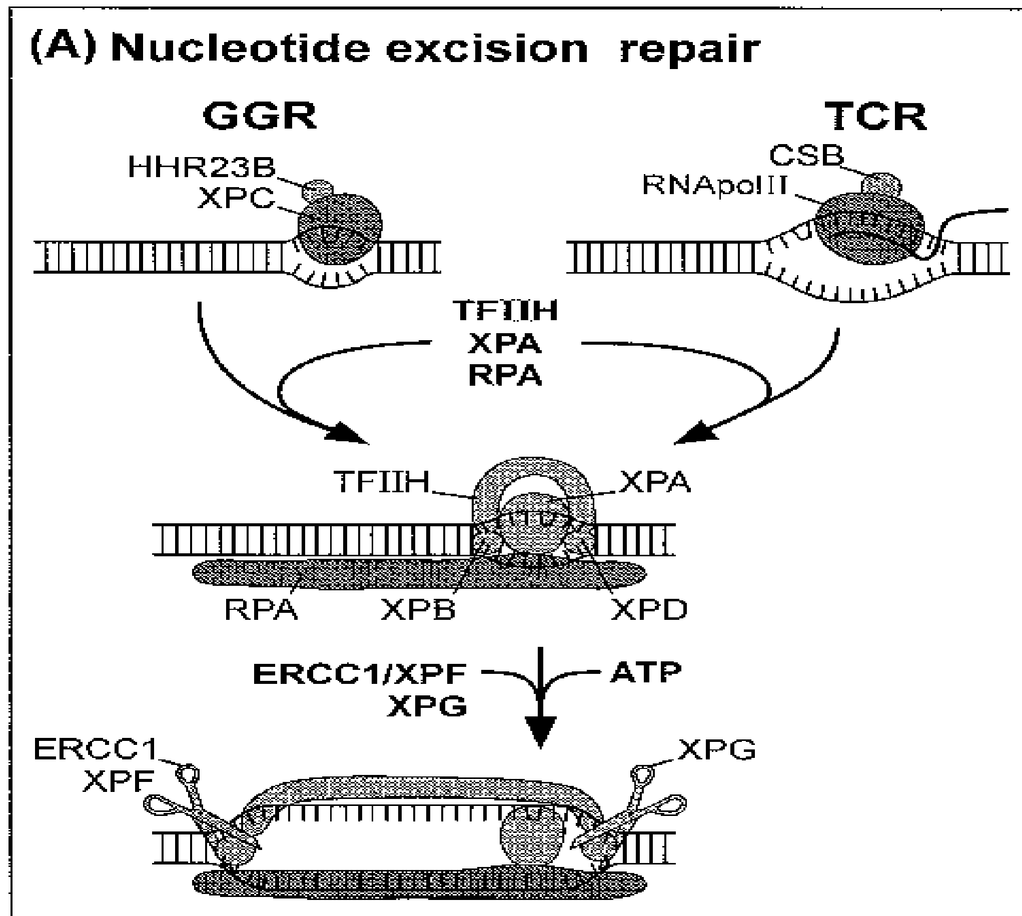


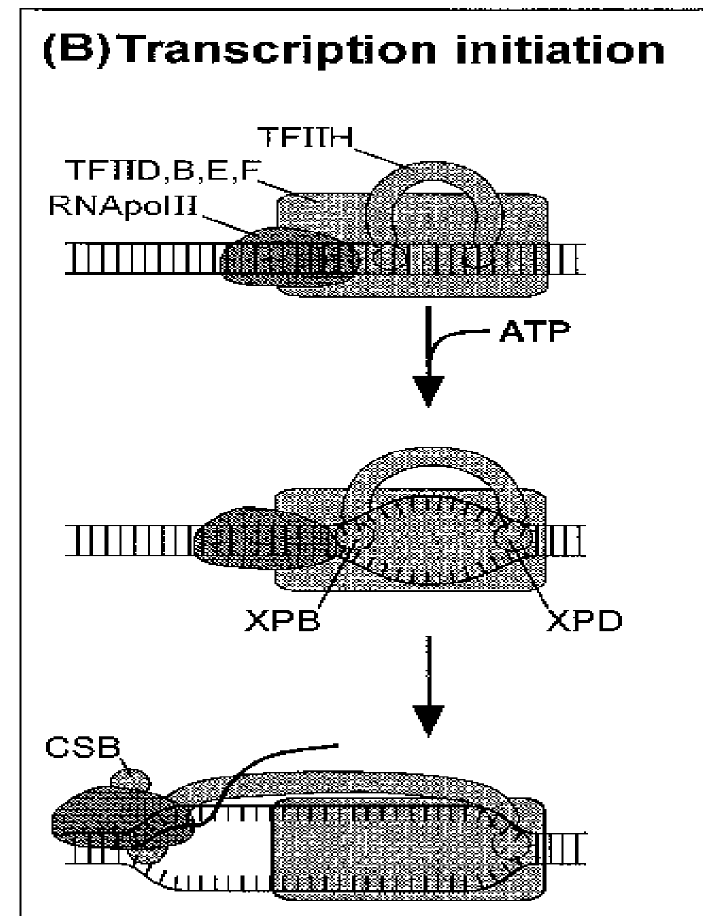
CPD or 6-4PP

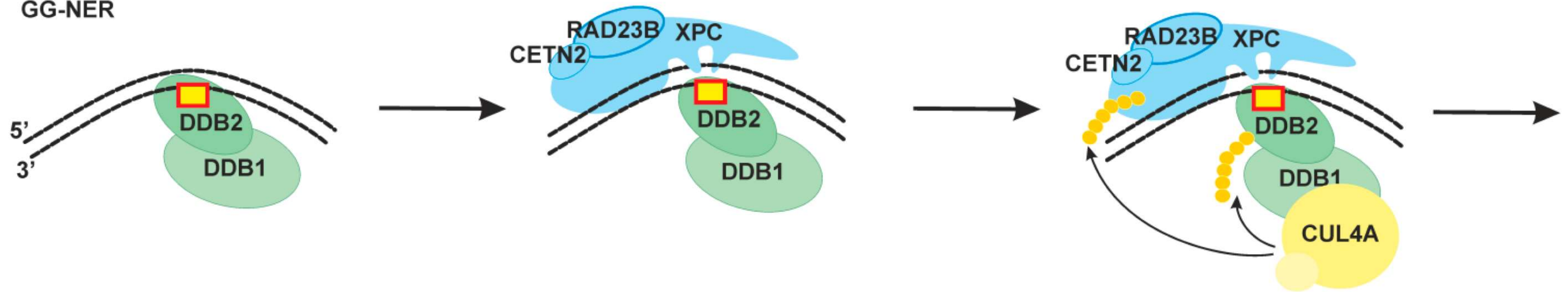
Ubiquitin

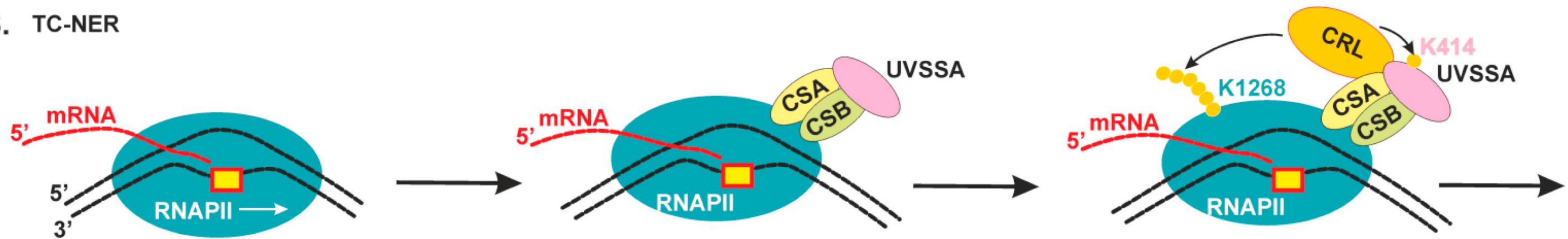


The recognition steps of two subpathways of nucleotide excision repair. In the global genome nucleotide excision repair subpathway (GG-NER), left, the damage sensor XPC, in complex with UV excision repair protein RAD23 homologue B (RAD23B) and centrin 2 (CETN2), which binds the non-damaged strand opposite the lesion with the help of the UV– DDB complex (step 2, left). Binding of the XPC complex to the damaged site results in RAD23B dissociation from the complex (step 3, left). In the transcription-coupled subpathway (TC-NER), damage recognition is initiated by the stalling of RNA polymerase II (Pol II). The stalled Pol II recruits CSB (step 2, right) and the Pol II–CSB complex serves as a platform to further recruitment of downstream repair factors such as CSA and UVSSA-USP7 (step 3, right). After damage recognition (step1–3), the TFIIH complex is recruited to the lesion in both GG-NER and TC-NER, along with XPA, RPA, and XPG (step 4). Once DNA lesion is verified, the damage-containing DNA short fragment is removed via dual incisions, new DNA fragment is synthesized, and NER reaction is completed through sealing the final nick by DNA ligase.


(A) Nucleotide excision repair
GGR
TCR
HHR23B
XPC
CSB
RNApolII
TFIIH
XPA
RPA
TFIIH
XPA
RPA
XPB
XPD
ERCC1/XPF
XPG
ATP
ERCC1
XPF
XPG

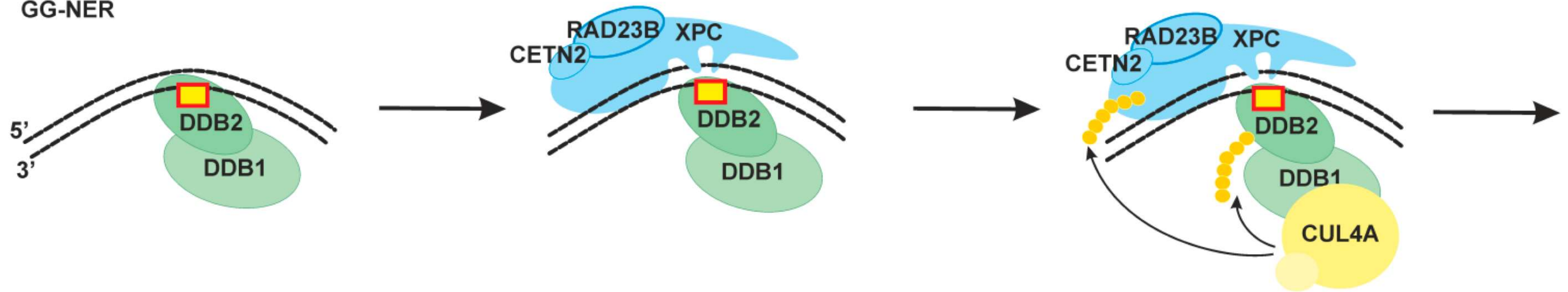

(B) Transcription initiation
TFIIH
TFIID,B,E,F
RNApolII
ATP
XPB
XPD
CSB

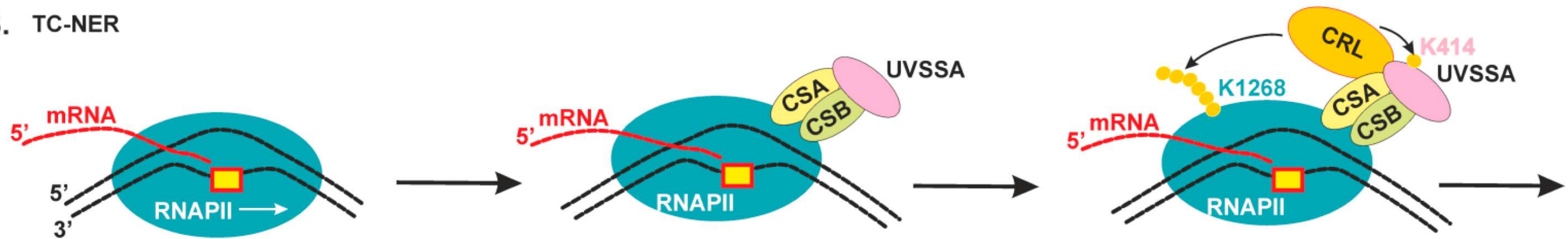




CPD or 6-4PP

Ubiquitin



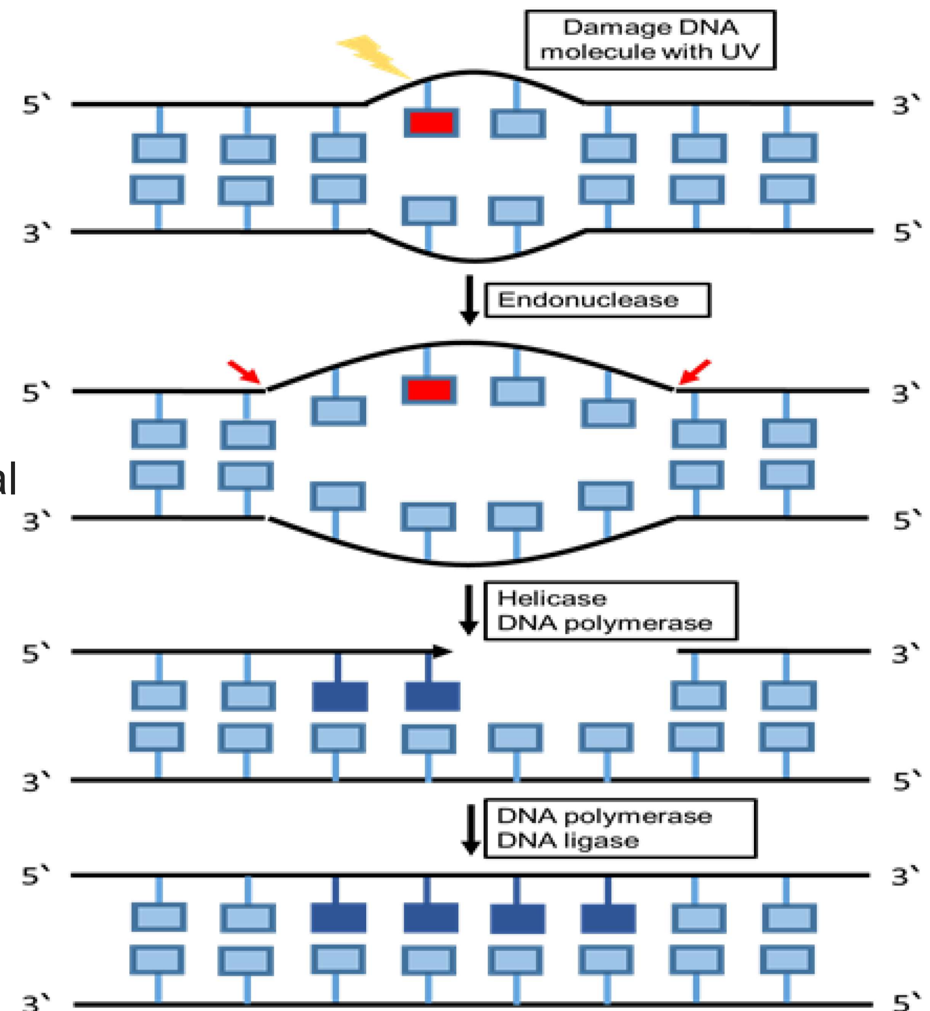


CPD or 6-4PP

Ubiquitin

Nucleotide excision repair pathway (NER),

In this repairing pathway the damaged bases are cut out within a sequence of nucleotides, and replaced with DNA as directed by the undamaged template strand.
The nucleotides modified by bulky chemical adducts and pyrimidine dimers formed by UV radiation were removed in this repair system.

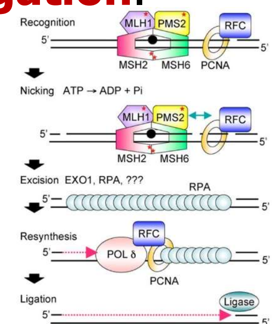


- **La réparation par excision de nucléotides =nucleotide excision repair (NER),**

Mismatch repair (MMR) pathway.

- The typical MMR reaction in human cells comprises three major steps.

1. First, the **mismatch recognition protein MutSα** (MSH2–MSH6 heterodimer) **or MutSβ** (MSH2–MSH3 heterodimer) recognizes the mismatch, which triggers concerted interactions with proliferating cell nuclear antigen (PCNA) and MutLα (MLH1–PMS2 heterodimer), **leading to the recruitment of exonuclease 1 (EXO1)** to a single-strand DNA break.
2. **Exo1-catalyzed DNA excises the mispaired base** from the nick up to and beyond the mismatch in a manner dependent on MutSα (or MutSβ), MutLα, and replication protein A (RPA).
3. the DNA **gap is filled by DNA polymerase δ** in the presence of PCNA, RPA, and replication factor C (RFC), followed by **DNA ligase I-catalyzed nick ligation**.



Mismatch repair (MMR) pathway.

- DNA mismatch repair (MMR) plays a critical role in maintaining genomic integrity. Defects in MMR have been associated with predisposition to certain cancers.
- In its role in post-replication repair, MMR safeguards the genome correcting base mispairs arising as a result of replication errors.
- Loss of MMR results in greatly increased rates of spontaneous mutation in organisms ranging from bacteria to humans.
- Mutations in MMR genes cause hereditary nonpolyposis colorectal cancer, and loss of MMR is associated with a significant fraction of sporadic cancers.
- Given its prominence in mutation avoidance and its ability to target a range of DNA lesions, MMR has been under investigation in studies of ageing mechanisms.

Ensuring the fidelity of DNA replication is central to preserving genomic integrity, and DNA mismatch repair (MMR) is critical for maintaining the fidelity of replication.

Mismatch repair (MMR) pathway.

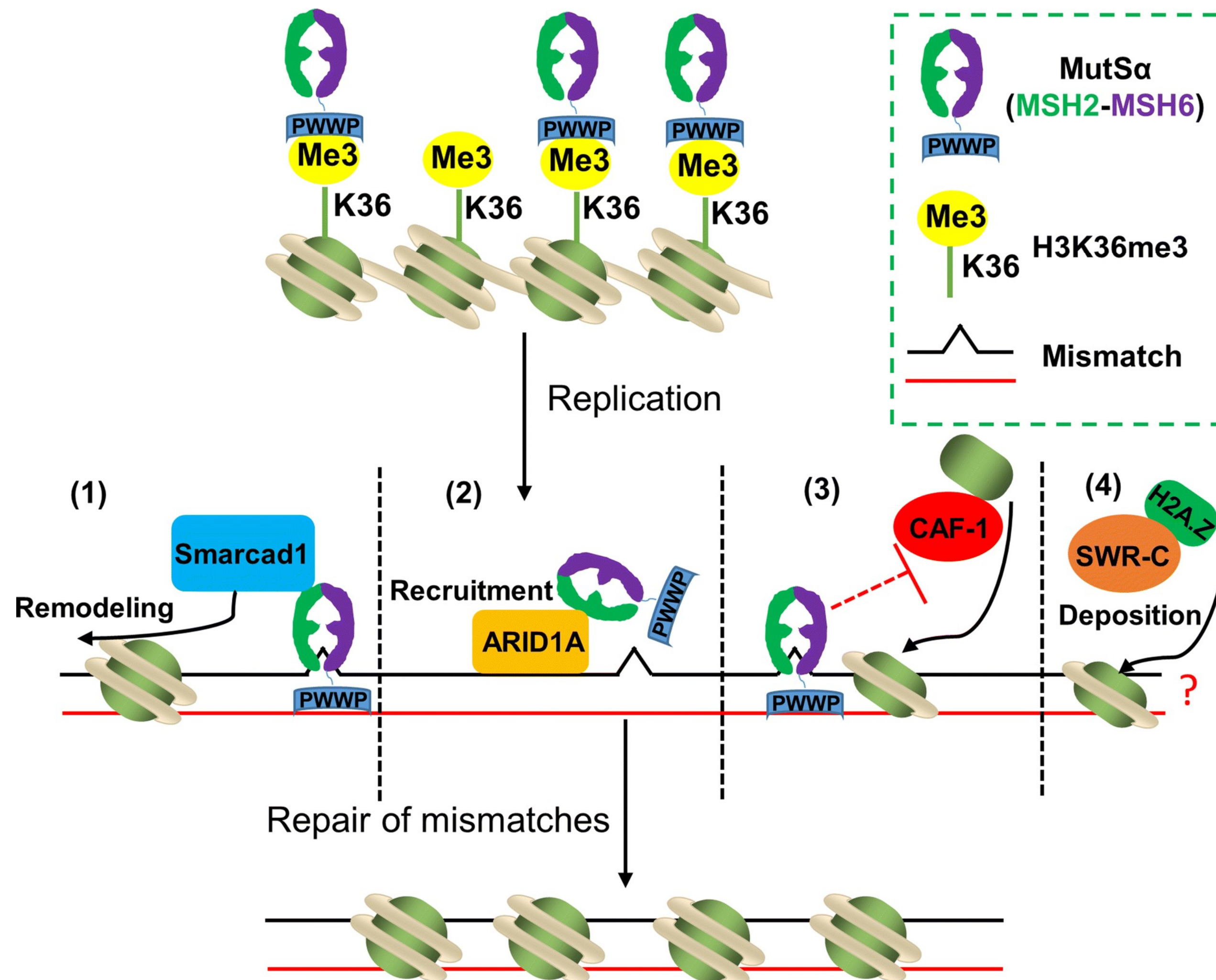
- MMR mainly repairs DNA lesions caused by faulty DNA replication or repair, resulting in mismatches or small insertion and deletion loops, or deamination of 5-methylcytosine.
- Failure of MMR is often associated with point mutations
- **The MMR system monitors the genome during DNA replication** to ensure that mistakes made by DNA polymerases are corrected.
- A large group of repair factors acts in a coordinated fashion to ensure accurate and timely repair.

Ensuring the fidelity of DNA replication is central to preserving genomic integrity, and DNA mismatch repair (MMR) is critical for maintaining the fidelity of replication.

Mismatch repair (MMR) pathway.

- In eukaryotes, DNA is wrapped around histone octamers, which, together with DNA, compose nucleosomes to form chromatin.
- all DNA metabolic reactions, including MMR, are precisely regulated by the structures of chromatin, particularly its component histone proteins and their modifications.
  - trimethylation of histone H3 lysine 36 (H3K36me3) plays a role in MMR by recruiting MutSα to replicating chromatin .
  - In addition, chromatin assembly/remodeling factors also interact with MMR proteins to coordinate MMR and nucleosome formation

Loss-of-function mutations or promoter hyper-methylation of MMR genes, such as MSH2 and MLH1, increase susceptibility to cancers, including hereditary non-polyposis colorectal cancer (HNPCC), also called lynch syndrome



Chromatin remodeling in MMR. MMR proteins, especially MutSα, coordinate with chromatin remodelers and nucleosome assembly factors to ensure the repair of mismatches before they are packaged into nucleosomes. The current understanding of how chromatin remodeling functions in MMR is as follows: (1) at the replication fork, the disruption of nucleosomes allows MutSα to bind to DNA and search for

Chromatin remodeling in MMR. MMR proteins, especially MutSα, coordinate with chromatin remodelers and nucleosome assembly factors to ensure the repair of mismatches before they are packaged into nucleosomes.

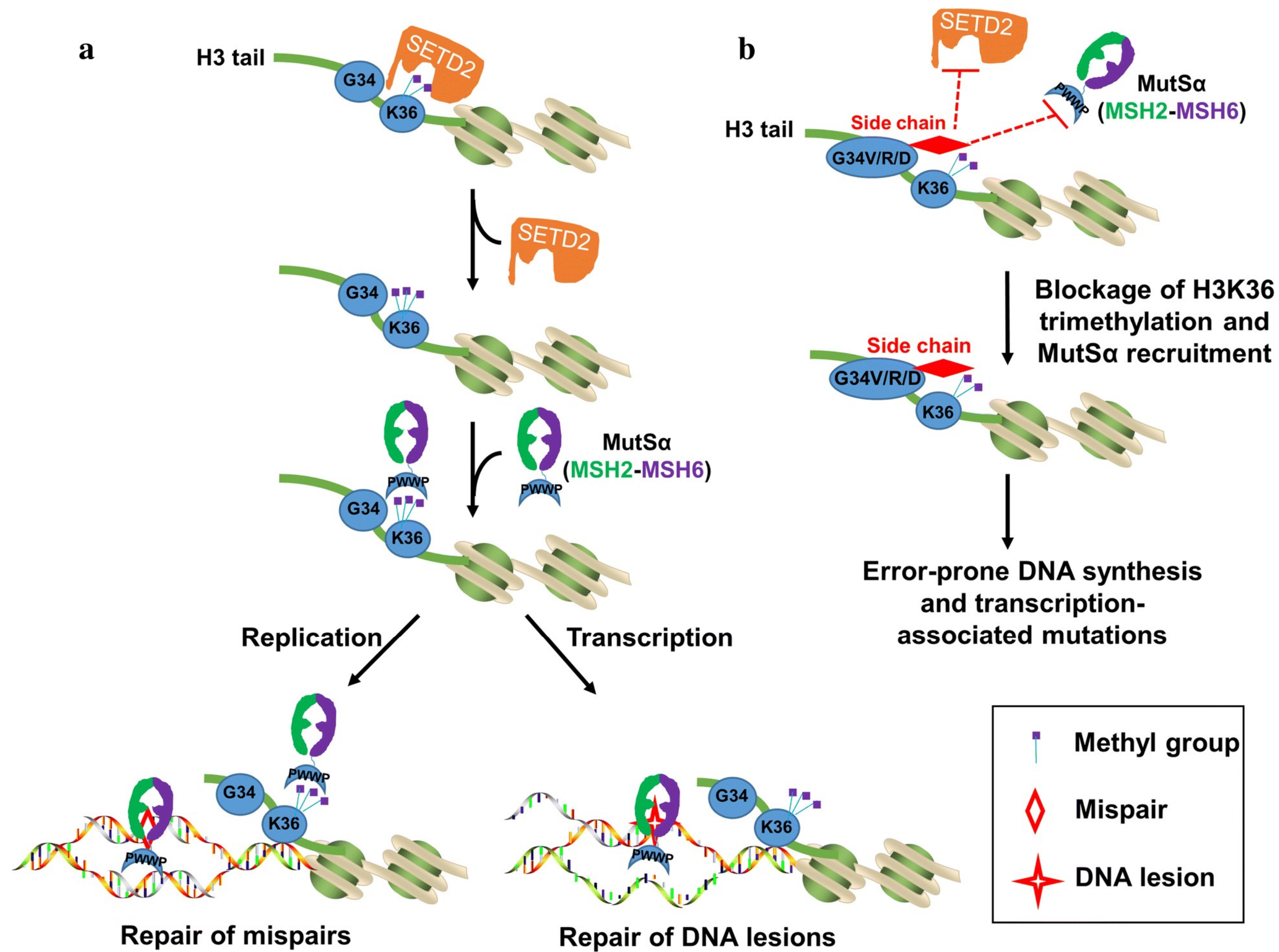
The current understanding of how chromatin remodeling functions in MMR is as follows:

(1) at the replication fork, the disruption of nucleosomes allows MutSα to bind to DNA and search for replication-generated mismatches, and the MSH2 subunit of MutSα interacts with the chromatin remodeler Smarcad1 to exclude nucleosomes from the repair site;

(2) ARID1A, a subunit of the chromatin remodeling complex SWI/SNF, interacts with MutSα through the MSH2 subunit;

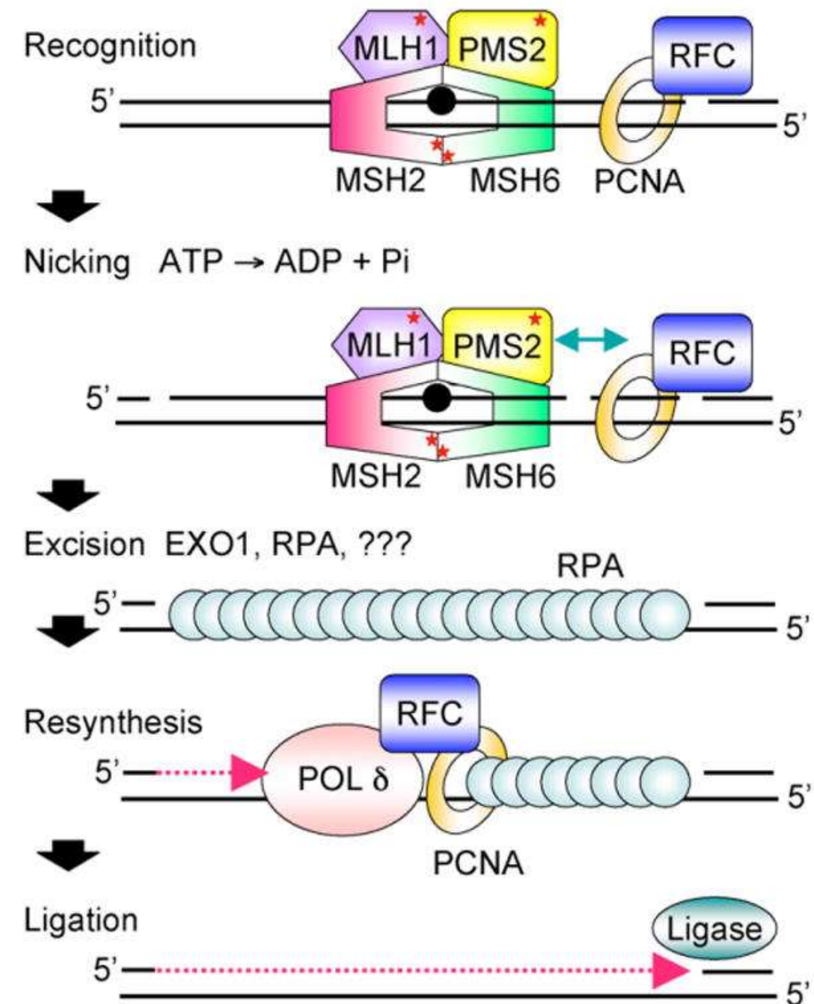
(3) MSH6 interacts directly with CAF-1 to inhibit CAF-1-mediated nucleosome assembly before mispaired nucleotides are corrected;

(4) chromatin remodeling enzyme SWR-C-dependent H2A.Z deposition enhances mismatch repair through an unknown mechanism


a
H3 tail
SETD2
G34
K36
SETD2
G34
K36
MutSα
(MSH2-MSH6)
PWWP
G34
K36
Replication
Transcription
G34
K36
PWWP
Repair of mispairs
G34
K36
PWWP
Repair of DNA lesions
b
SETD2
MutSα
(MSH2-MSH6)
PWWP
H3 tail
Side chain
G34V/R/D
K36
Blockage of H3K36
trimethylation and
MutSα recruitment
Side chain
G34V/R/D
K36
Error-prone DNA synthesis
and transcription-
associated mutations
Methyl group
Mispair
DNA lesion

scheme for 3'-directed eukaryotic MMR. Recognition of a mismatch by **MutSα (MSH2-MSH6) or MutSβ (MSH2-MSH3, not shown) and MutLα (MLH1-PMS2)** results in the formation of a ternary complex whose protein-protein and protein-DNA interactions are modulated by ATP/ADP cofactors bound by MutSα and MutLα (indicated by red *). PCNA may play an important role in the recruitment of MMR proteins to the vicinity of the replication fork via a PIP motif on MSH6 and MSH3.

Nicking by the endonuclease function of PMS2 stimulated by ATP, PCNA, and RFC and relevant protein-protein interactions (indicated by green arrow) may establish strand discrimination targeting repair to the newly synthesized strand. MMR is bidirectional and can be 5'-directed as well; this is not shown. HMGB1, a nonhistone chromatin protein that bends DNA also facilitates MMR in vitro at or before the excision step (not shown). Excision by EXO1 and possibly other as yet unidentified exonucleases leads to the formation of an RPA-coated single-strand gap. Resynthesis by replicative polδ and ligation restore the integrity of the duplex.



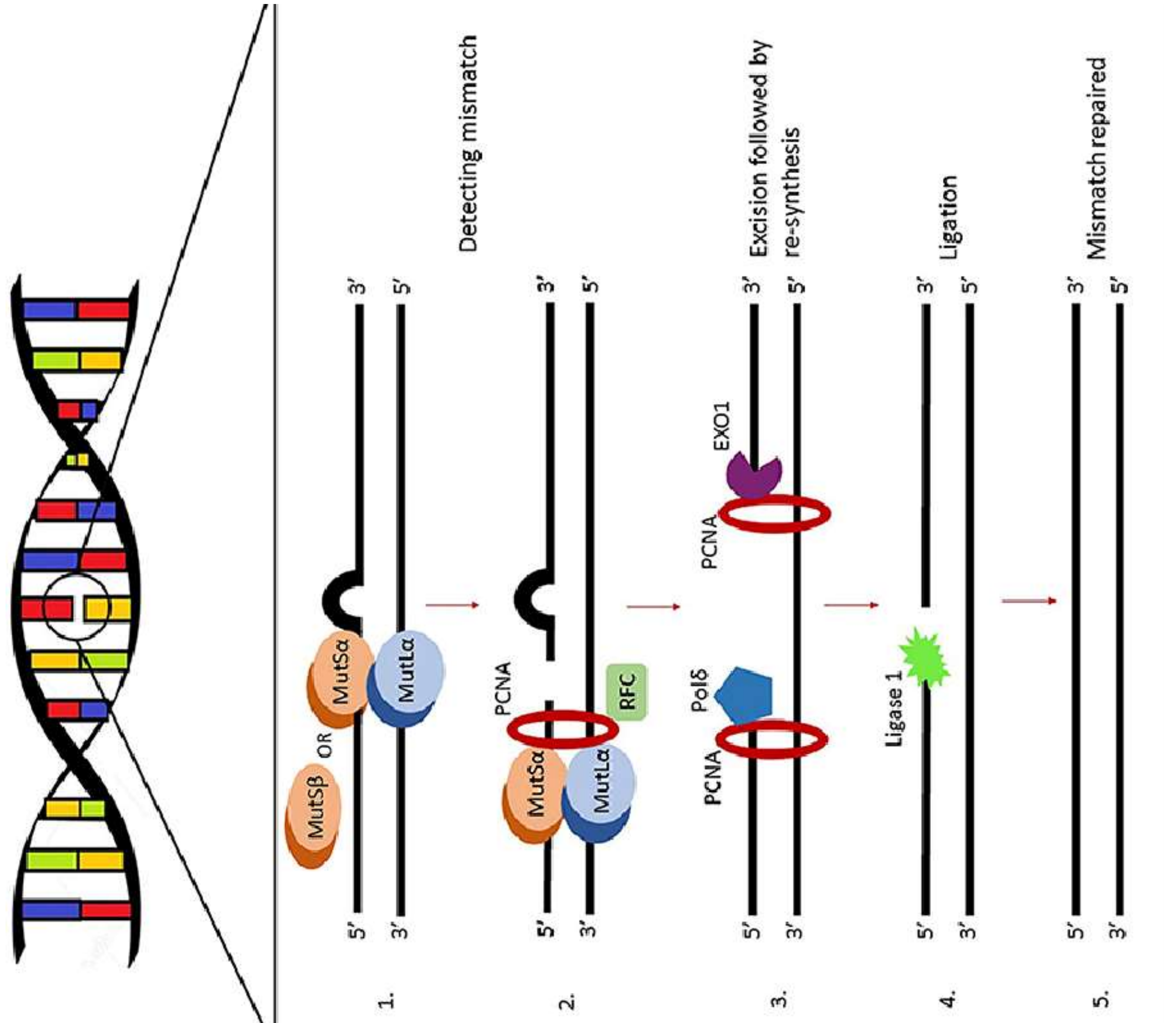


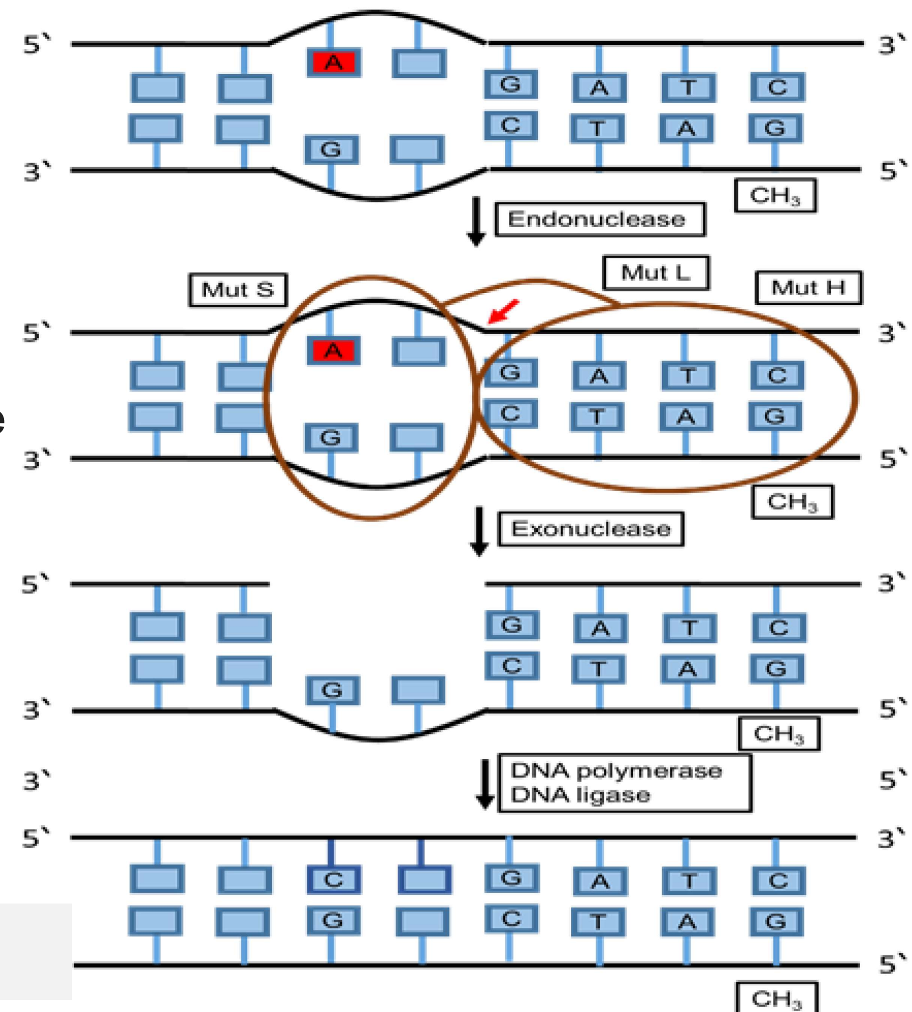
Illustration of eukaryotic MMR system.

MutSα (heterodimer MSH2-MSH6 predominant in human cells) or MutSβ (heterodimer starts DNA repair by recognizing and binding to mismatches). Other molecules are recruited to the complex, primarily MutLα (heterodimer MLH1-PMS2) but also proliferating cell nuclear antigen (PCNA) and replication factor C (RFC).

The assembly will initiate endonuclease activity of PMS2 which makes single-strand breaks near the mismatch and opens exonuclease 1 (EXO1) entry sites leading to the final dissociation of the DNA lesion.

Mismatch repair (MMR) pathway.

This repairing pathway removes and replaces mispaired bases that were not fixed during proofreading using a group of proteins that recognizes and binds to the mispaired base.
Then, other protein complexes chop off the DNA near the mismatch, which is followed by cutting of the incorrect nucleotide and surrounding patches of DNA using specific enzymes in order to be able to replace the missing section with the correct nucleotides.



- **La réparation des mésappariements ou mismatch repair (MMR),**

DNA mismatch repair (MMR) plays a critical role in maintaining genomic integrity.

Non-homologous end joining (NHEJ) is a pathway that repairs double-strand breaks in DNA /DNA double-strand breaks (DSBs)

DNA double-strand breaks (DSBs) are dangerous lesions that can lead to potentially oncogenic genomic rearrangements or cell death.
If left unrepaired, or repaired incorrectly, DSBs may result in massive loss of genetic information, genomic rearrangements, or cell death.
The two major pathways for repair of DSBs are:

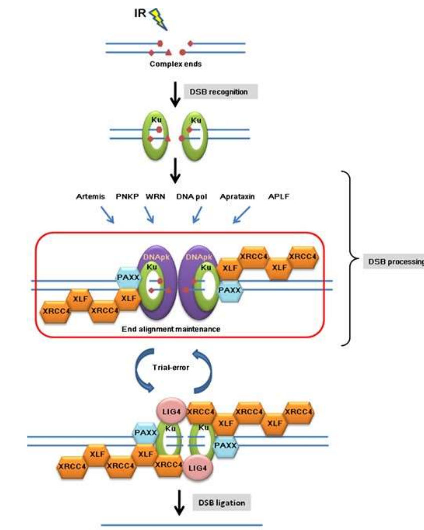
1. **nonhomologous end joining (NHEJ) and**
2. **homologous recombination (HR).**

NHEJ is an intrinsically error-prone pathway while HR results in accurate repair.

DNA double-strand breaks (DSBs), in which both strands in the double helix are severed, are the most dangerous type of DNA lesion.

Non-homologous end joining (NHEJ) is a pathway that repairs double-strand breaks in DNA /DNA double-strand breaks (DSBs)

NHEJ is a rapid and efficient repair process, and it may repair DNA damage without the activation of DNA-damage response (DDR) proteins, ATM, the RAD50:MRE11:NBS1 complex, γ-H2AX, and 53BP1.



Non-homologous end joining (NHEJ) is a pathway that repairs double-strand breaks in DNA /DNA double-strand breaks (DSBs)

- DSBs are repaired by two major mechanisms: non-homologous end joining (NHEJ) and homologous recombination (HR) 1.
- The two pathways differ in their fidelity and template requirements.

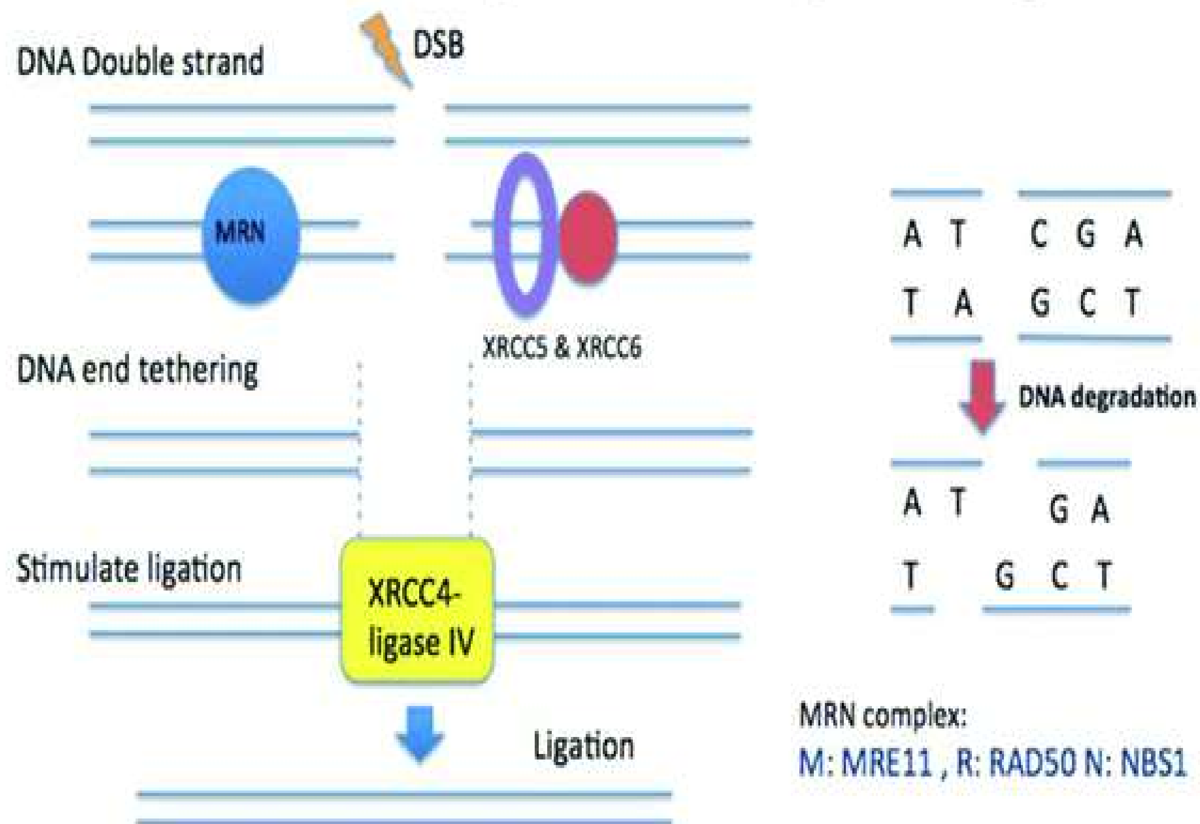
1. **NHEJ modifies the broken DNA ends, and ligates them together with little or no homology, generating deletions or insertions .**
2. **In contrast, HR uses an undamaged DNA template on the sister chromatid or homologous chromosome to repair the break, leading to the reconstitution of the original sequence**

- NHEJ plays an important role in preventing age-related increase in genomic instability and functional decline.
- Thus, the choice of DSB repair pathway determines the fidelity of repair, which in turn may influence the rates of aging and tumorigenesis
- NHEJ is a major DSB repair pathway in G1 stage, while both NHEJ and HR may be active in S/G2/M.

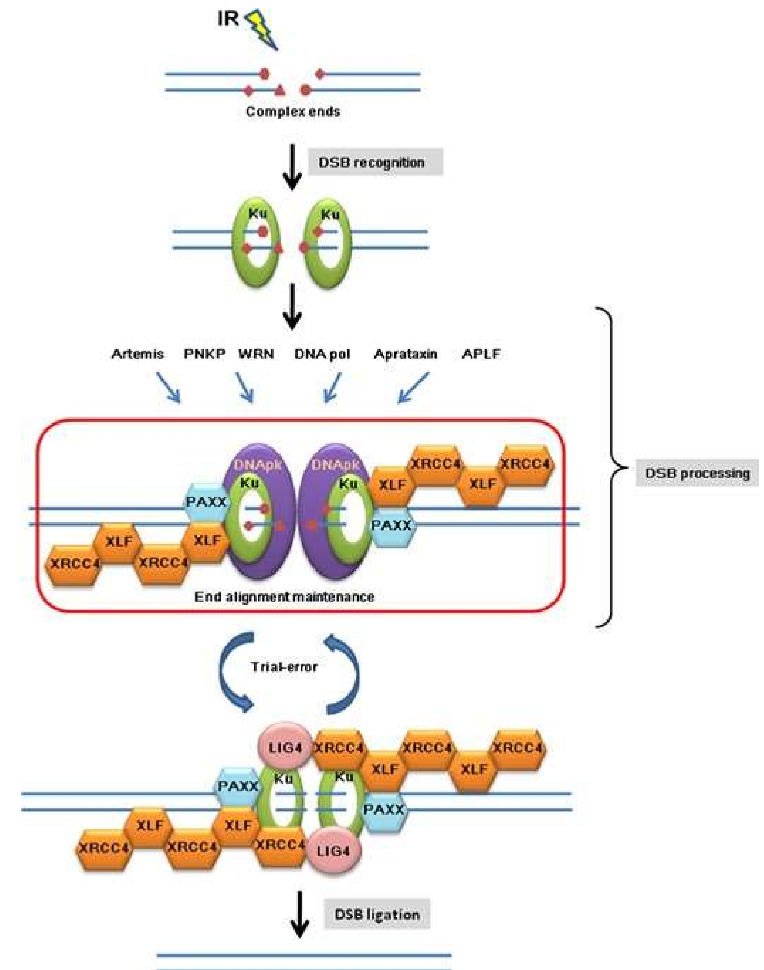
Non-homologous end joining (NHEJ) is a pathway that repairs double-strand breaks in DNA /DNA double-strand breaks (DSBs)

- HEJ occurs via three main steps:
- (1) DSB recognition,
- (2) processing of nonligatable DNA termini, and
- (3) joining of two suitable DSBs.

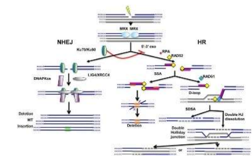
- NHEJ ligates two broken ends together, thereby frequently resulting in small insertions and deletions.
- postmitotic cells rely on NHEJ for repairing DSBs.
- Failure to faithfully repair DSBs can result in point mutations, deletions, and large genome rearrangements
  NHEJ activity and fidelity decline with age
- mutations in NHEJ genes including Ku70 and Ku80 have been associated with shortened life spans in mice

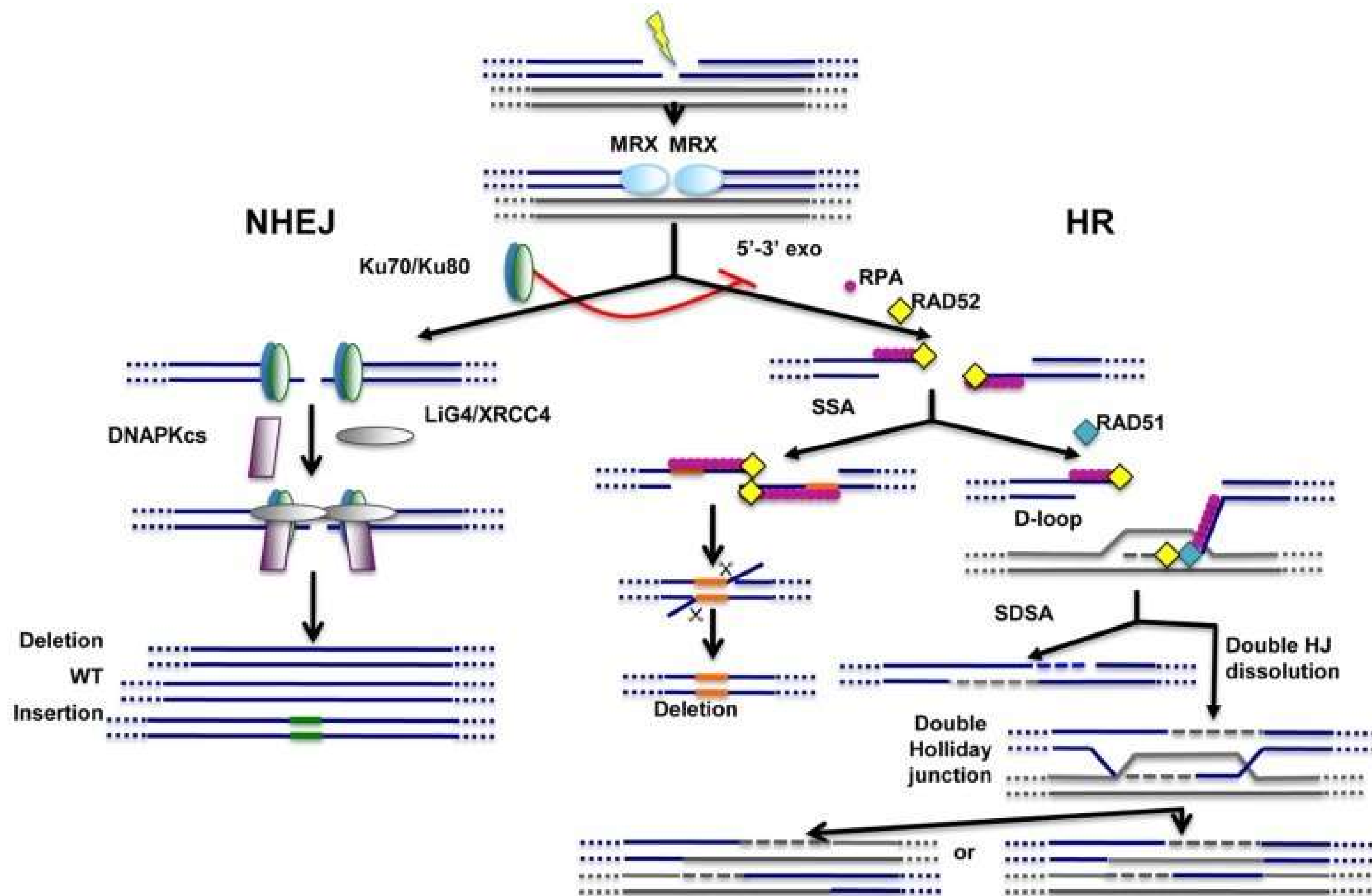

Non-Homologous End Joining
DNA Double strand
DSB
MRN
XRCC5 & XRCC6
DNA end tethering
Stimulate ligation
XRCC4-
ligase IV
Ligation
A T C G A
T A G C T
DNA degradation
A T G A
T G C T
MRN complex:
M: MRE11 , R: RAD50 N: NBS1

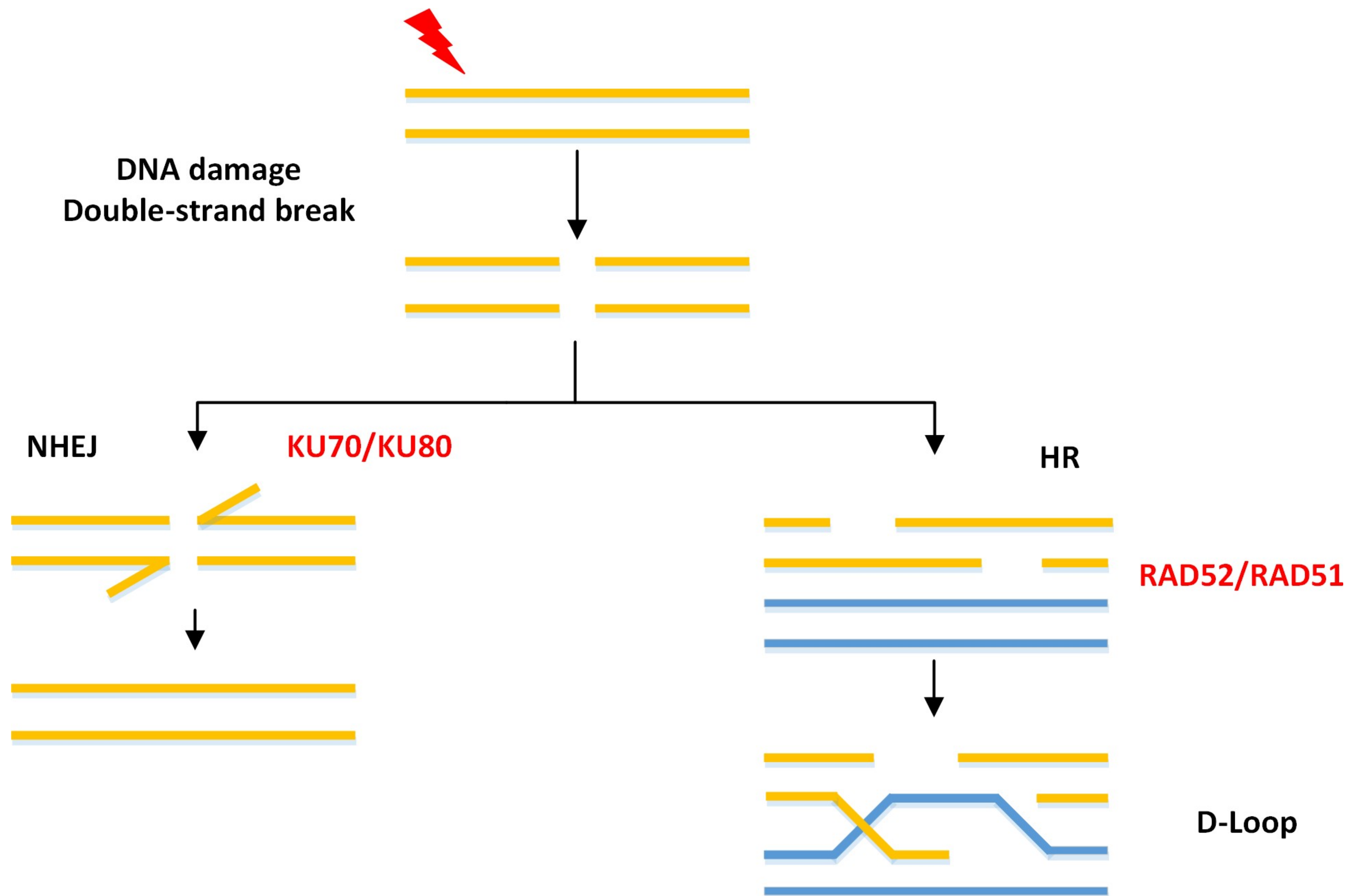
Schematic overview of NHEJ Ku complex can recognize DSB and recruit other NHEJ core factors, including DNA-PKcs, XRCC4, XLF, and PAXX. These core factors form a stable complex that maintains the end alignment and promotes end processing and ligation possibly in a 'trial-and-error' manner.



- Main pathways of DNA repair. Non-homologous end-joining (NHEJ) and homologous recombination (HR) pathways act competitively to repair DNA double-strand breaks (DSBs). Key players of NHEJ and HR are depicted.
- The MRE11/RAD50/XRS2 (MRX) complex is recruited very early at DNA ends and appears to play important roles for both NHEJ and HR. Ku70/Ku80 heterodimer is required for NHEJ and, through inhibition of DNA end resection (5'–3' exo), acts as a repressor of HR. Fidelity of NHEJ-dependent DSB repair is low and, most of the time, associated with nucleotide deletions and/or insertions at repair junctions.
- The common early step of HR-dependent mechanisms is the formation of ssDNA which is then coated by replication protein A (RPA).
- Single-strand annealing (SSA) mechanism requires the presence of direct repeats (shown in orange) on both sides of the break. SSA does not imply any strand invasion process and is therefore not dependent on RAD51 protein. Strand invasion and D-loop formation are however common steps of synthesis-dependent strand annealing (SDSA) and double Holliday junction (HJ) dissolution mechanisms. In the latter case, double Holliday junctions are resolved with or without crossing-over.



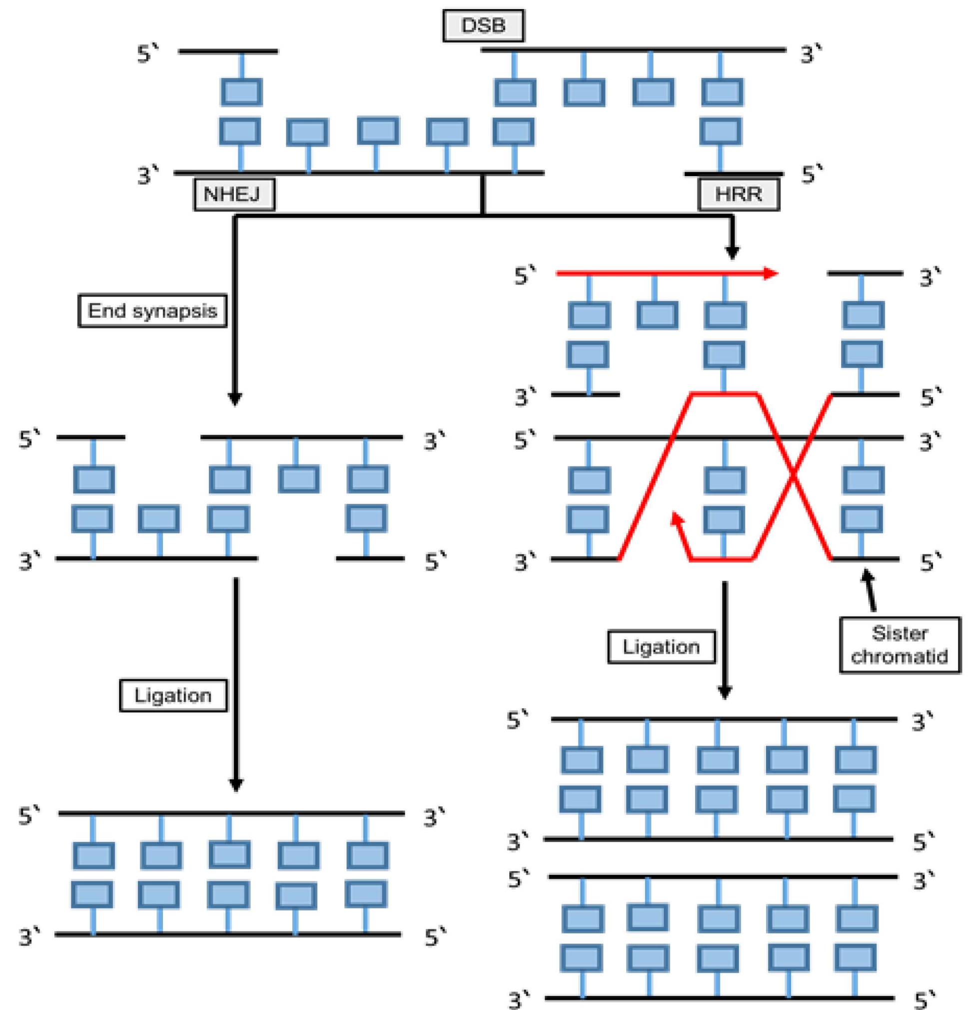

MRX MRX
NHEJ
HR
Ku70/Ku80
5'-3' exo
RPA
RAD52
DNAPKcs
LiG4/XRCC4
SSA
RAD51
D-loop
SDSA
Double HJ
dissolution
Deletion
WT
Insertion
Deletion
Double
Holliday
junction
or


DNA damage
Double-strand break
NHEJ
KU70/KU80
HR
RAD52/RAD51
D-Loop

Non-homologous end joining and homologous recombination repair. - NHEJ

In NHEJ the break ends are directly ligated without the need for a homologous template, as it typically utilizes short homologous DNA sequences called microhomologies to guide repair. In HRR, nucleotide sequences are replaced with two matching molecules of double-stranded or single-stranded nucleic acids, as this pathway requires a homologous sequence to guide repair.

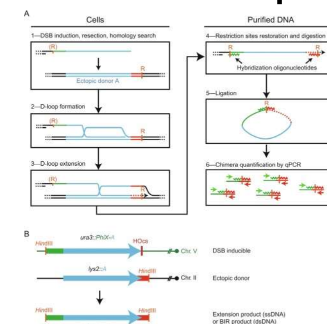
- **La réparation par jonction d'extrémités non homologues (NHEJ),**

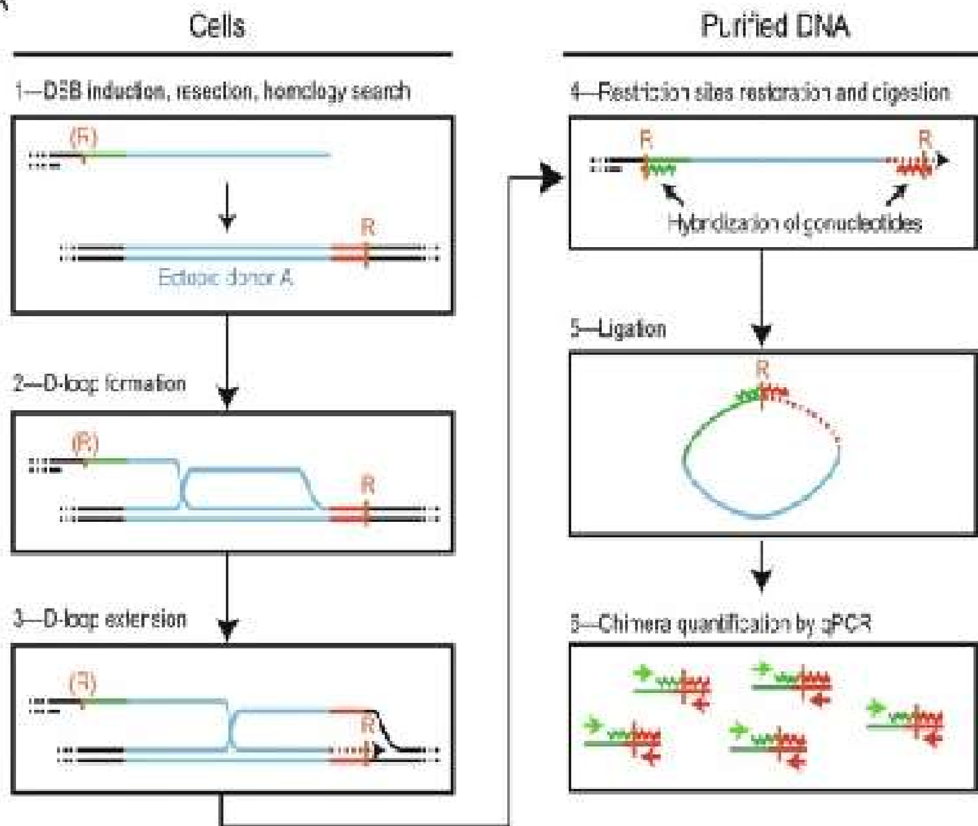


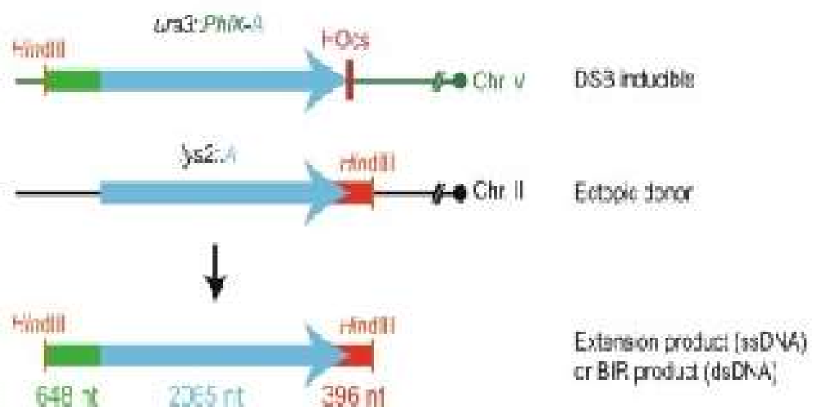
Homologous recombination (HR) faithfully repairs complex DNA damage including DNA double-stranded breaks (DSBs) by referencing an intact donor template in the form of the sister chromatid, a homolog, or an ectopic sequence. DNA strand invasion posits the 3′-OH of the invading DNA strand on the donor template (Fig. 1A).

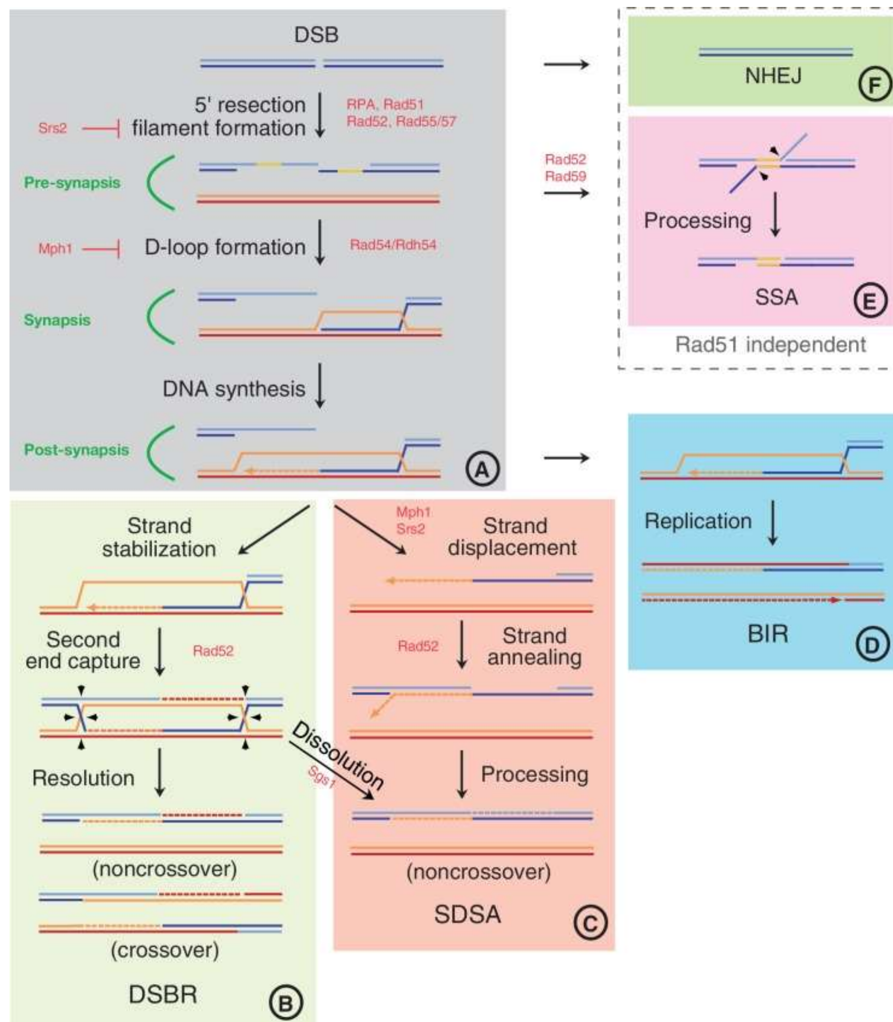
HR-associated DNA synthesis recovers the sequence information disrupted by the DSB.

The extended D-loop is the last intermediate common to all HR subpathways (double Holliday Junction, Synthesis-Dependent Strand Annealing, Break-Induced Replication (BIR)) and their associated repair outcome

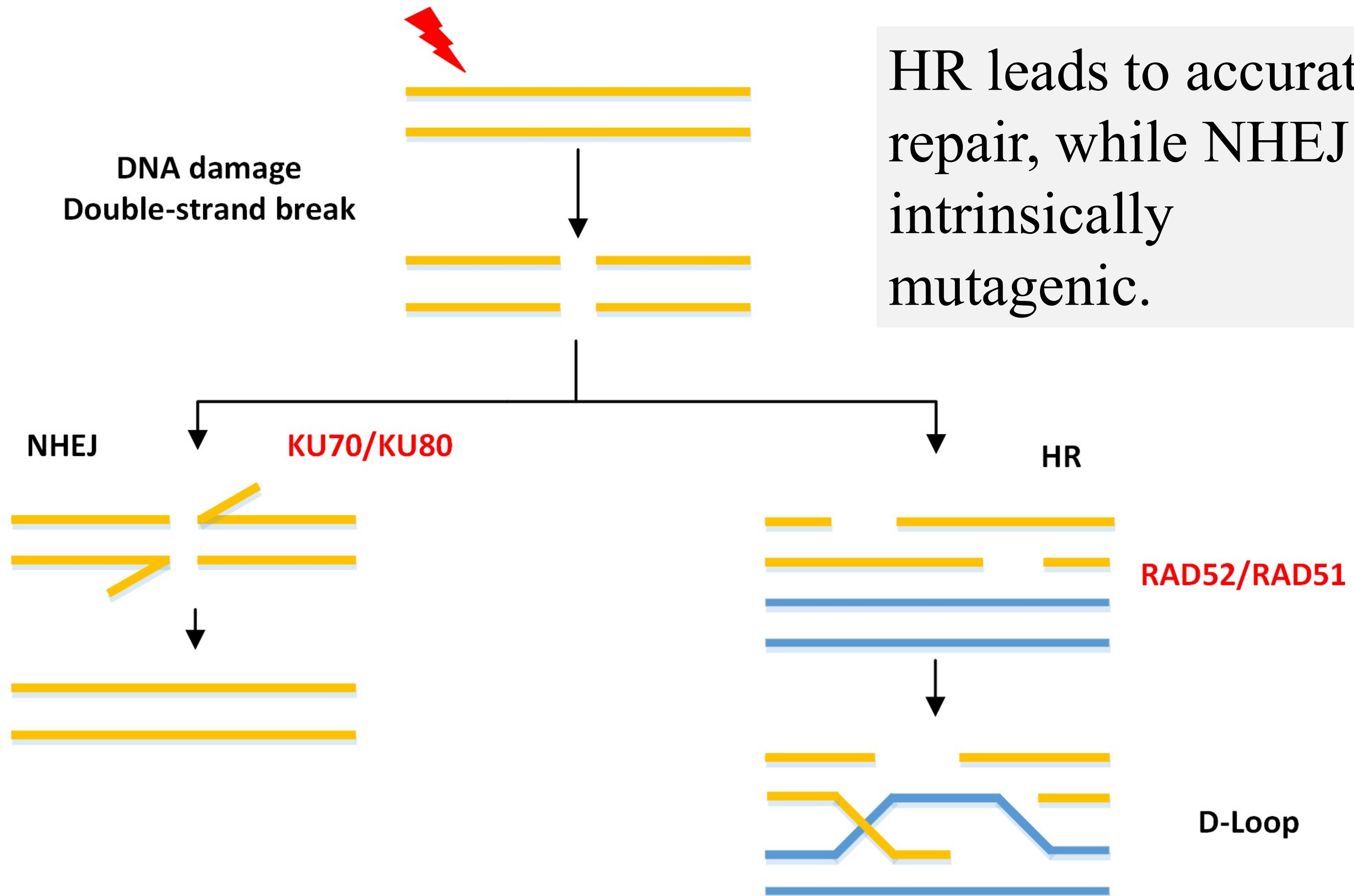



A
Cells
Purified DNA
1—DSB induction, resection, homology search
Ectopic donor A
2—D-loop formation
3—D-loop extension
4—Restriction sites restoration and digestion
Hybridization of oligonucleotides
5—Ligation
6—Chimera quantification by qPCR
R
(R)


B
HindIII
I-SceI
Chr V
DSB inducible
HindIII
Chr II
Ectopic donor
HindIII
HindIII
648 nt
2365 nt
396 nt
Extension product (ssDNA)
or BIR product (dsDNA)



Models for the repair of DNA double-strand breaks. DNA DSBs are resected to generate 3′-protruding ends followed by formation of Rad51 filaments that invade into homologous template to form D-loop structures. (**A**) After priming DNA synthesis, three pathways can be invoked. In the DSBR pathway, the second end is captured and a dHJ intermediate is formed. (**B**) Resolution of dHJs can occur in either plane to generate crossover or non-crossover products. Alternatively, dHJs can be dissolved by the action of Sgs1–Top1–Rmi1 complex to generate only non-crossovers. In the SDSA pathway (**C**), the extended nascent strand is displaced, followed by pairing with the other 3′-single-stranded tail, and DNA synthesis completes repair. Nucleolytic trimming might be also required. In the third pathway of BIR (**D**), which can act when the second end is absent, the D-loop intermediate turns into a replication fork capable of both lagging and leading strand synthesis. Two other Rad51-independent recombinational repair pathways are also depicted. In SSA (**E**), extensive resection can reveal complementary sequences at two repeats, allowing annealing. The 3′-tails are removed nucleolytically and the nicks are ligated. SSA leads to the deletion of one of the repeats and the intervening DNA. Finally, the ends of DSB can be directly ligated resulting in NHEJ. (**F**) Newly synthesized DNA is represented by dashed lines.



HR leads to accurate repair, while NHEJ is intrinsically mutagenic.

covalent DNA cross-links and double-stranded DNA breaks, are repaired through a complex process called homologous recombination.

- **Homologous recombination (HR) plays a pivotal role in maintaining genomic stability by repairing complex DNA damage such as DNA double-stranded breaks and interstrand cross-links.**
- **HR proteins protect stalled replication forks as well as recover stalled or broken forks.**

Defects in HR lead to elevated cancer predisposition

HR leads to accurate repair, while NHEJ is intrinsically mutagenic.

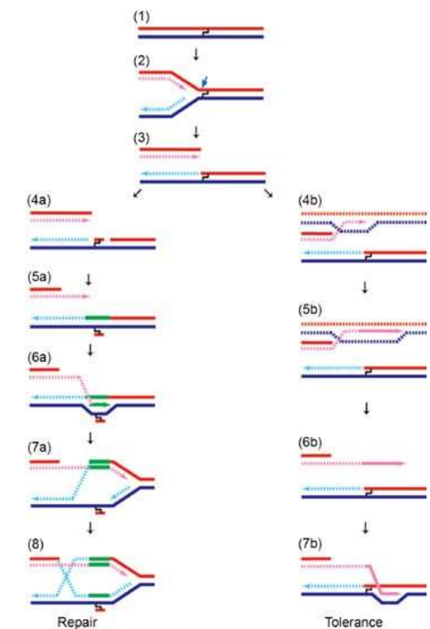
HR provides a mechanism for the accurate repair of DNA double-strand breaks, protecting cells from chromosomal aberrations such as those seen in cancer.

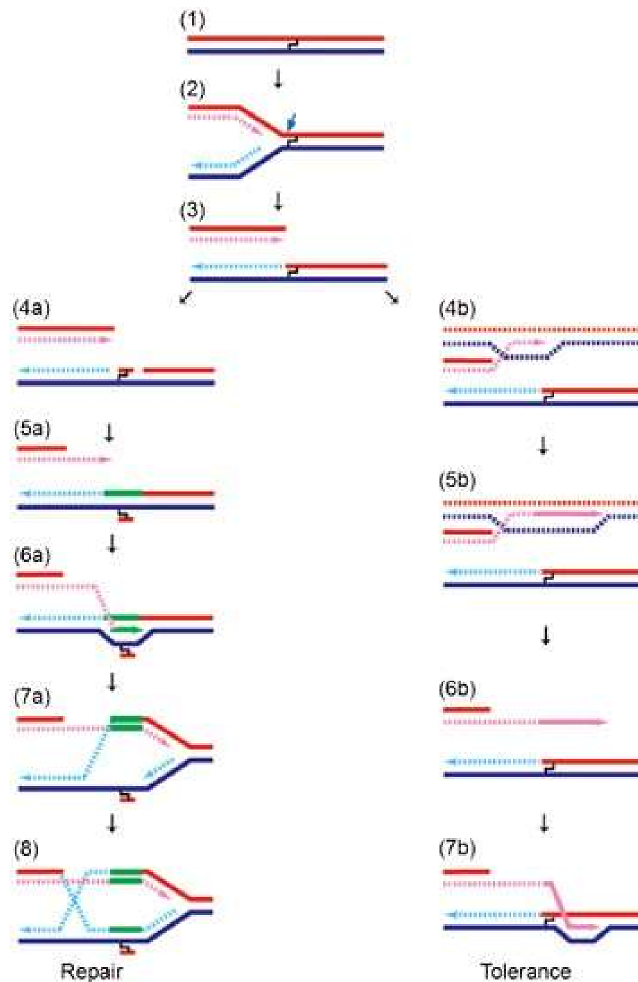
During DNA replication, HR proteins promote the stability and recovery of troubled DNA replication forks.

Homologous recombination (HR) is one of the two major pathways in eukaryotic cells for the repair of double-strand DNA breaks.

Homologous recombination (HR) is a DNA metabolic process that provides high-fidelity, template-dependent repair or tolerance of complex DNA damages including DNA gaps, DNA double-stranded breaks (DSBs), and DNA interstrand crosslinks (ICLs)

Homologous recombination (HR) is an evolutionarily conserved process that is essential for genome plasticity and is thus involved in numerous fundamental biological processes.



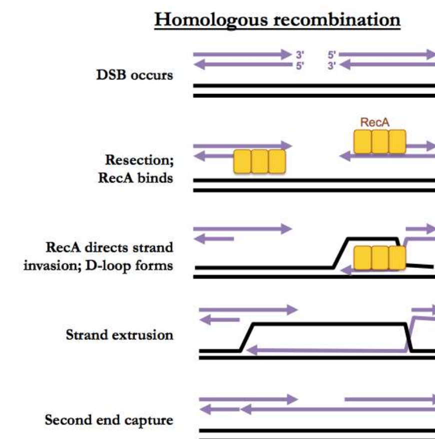


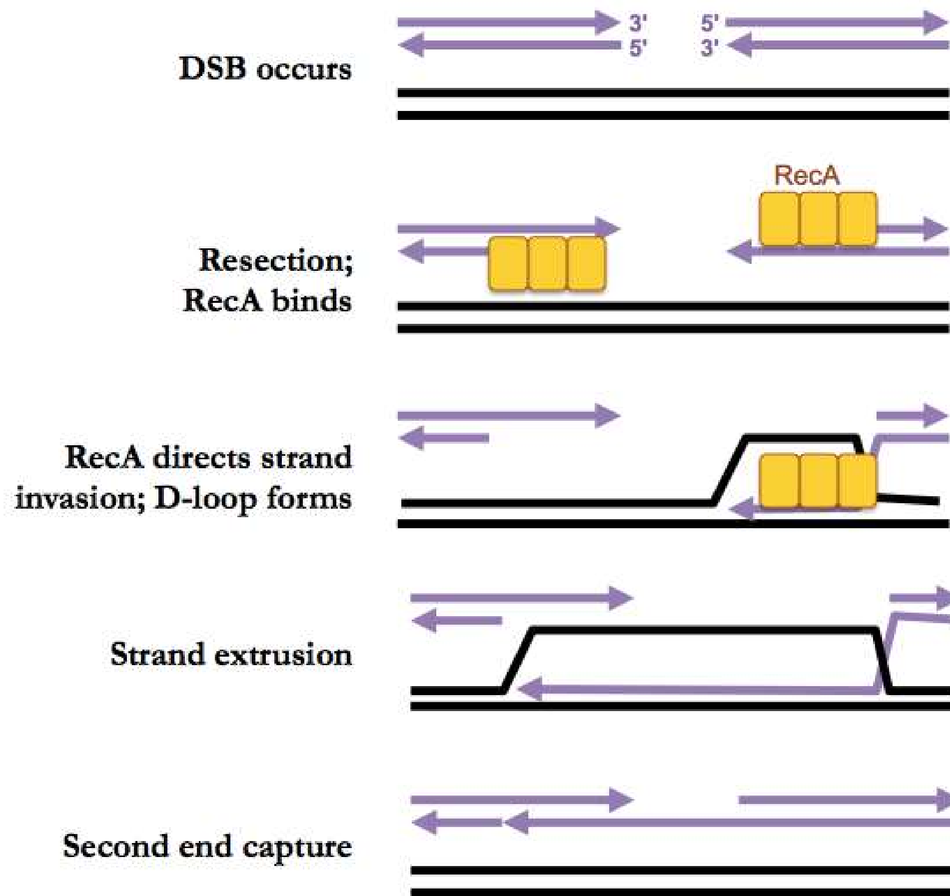
Homologous recombination and repair of DNA interstrand crosslinks. Possible pathways to resolve replication forks stalled at interstrand crosslinks. The stalled replication fork is recognized and cleaved by a specific endonuclease (hMus81-Eme1 [144]) in the leading-strand template to generate a one-sided DSB (steps 1-3). Introduction of a second incision on the other side of the ICL (step 4a) allows the lesion to flip out and to be bypassed by TLS (green line). The DSB is processed to form a 3′-OH ending single-stranded tail (step 5a) and to initiate DNA strand invasion (step 6a). The replication fork is restored (steps 7a) and the lesion is bypassed by TLS (green line). The lesion is eventually repaired, either after HR as drawn in step 8 or before (e.g. at step 5a). The DSB can also initiate DNA strand invasion using the homolog as a template (step 4b). DNA is synthesized across the lesion region (step 5b), disengaged (step 6b) and reinvasion of the sister chromatid behind the lesion site can lead to restoration of the replication fork and tolerance of the lesion (7b; the step from D-loop to recovered fork are not drawn and equivalent to Figure 2A, steps 3a-4a-5a). The hypothetical steps for ICL repair by nucleotide excision repair are not drawn here. For additional schemes for ICL repair/tolerance at stalled replication forks or in non-replicating DNA see refs. 138, 139, 145.

Homologous recombination (HR)

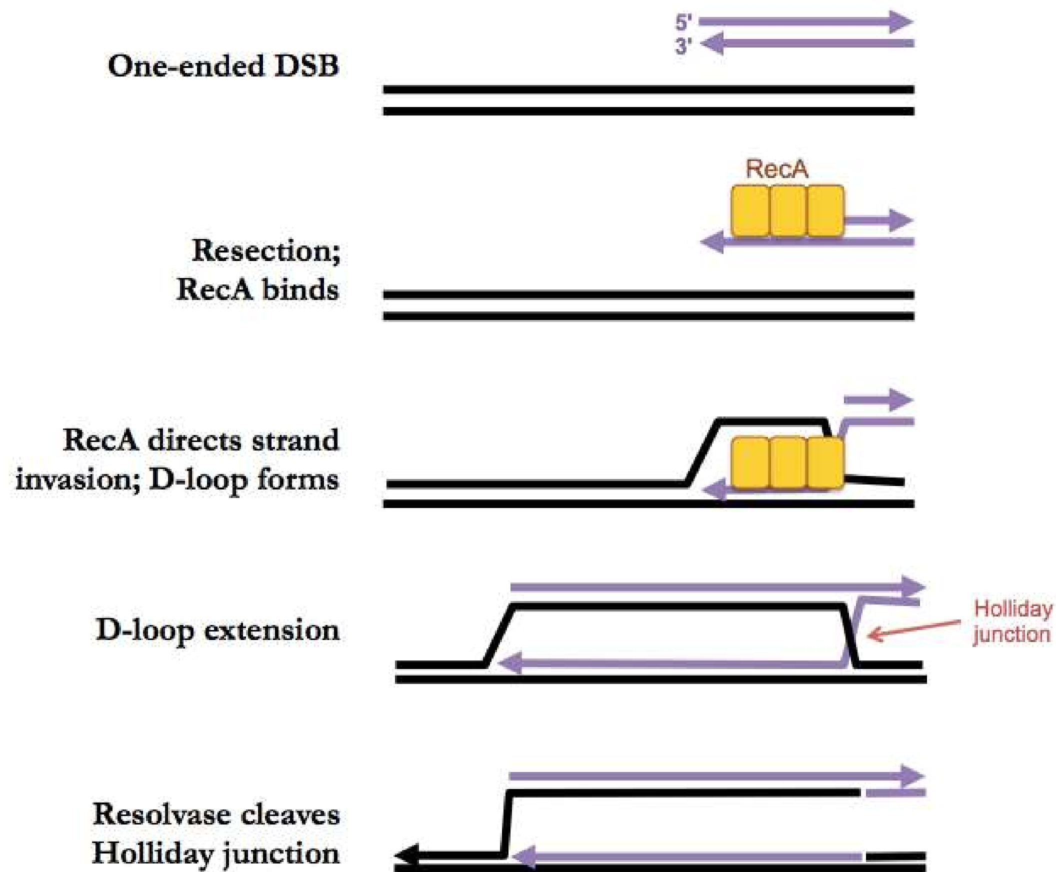
We'll introduce HR in the context of its ability to fix two-ended DSBs. At both of the double-stranded ends facing each other, the 5' strand is resected (trimmed back). A recombinase (RecA in bacteria, Rad51 in eukaryotes) will then bind the single strand. This complex is called a **presynaptic filament**. The recombinase will then perform **strand invasion** whereby it base-pairs the single strand with the complementary strand of the homologous duplex. This forms a "D-loop". The single strand is then extended, using the complementary strand as template, until it reaches a region homologous to the 3' end of the opposite side of the break. Then the second end can be recaptured, after which gap filling and ligation occur (

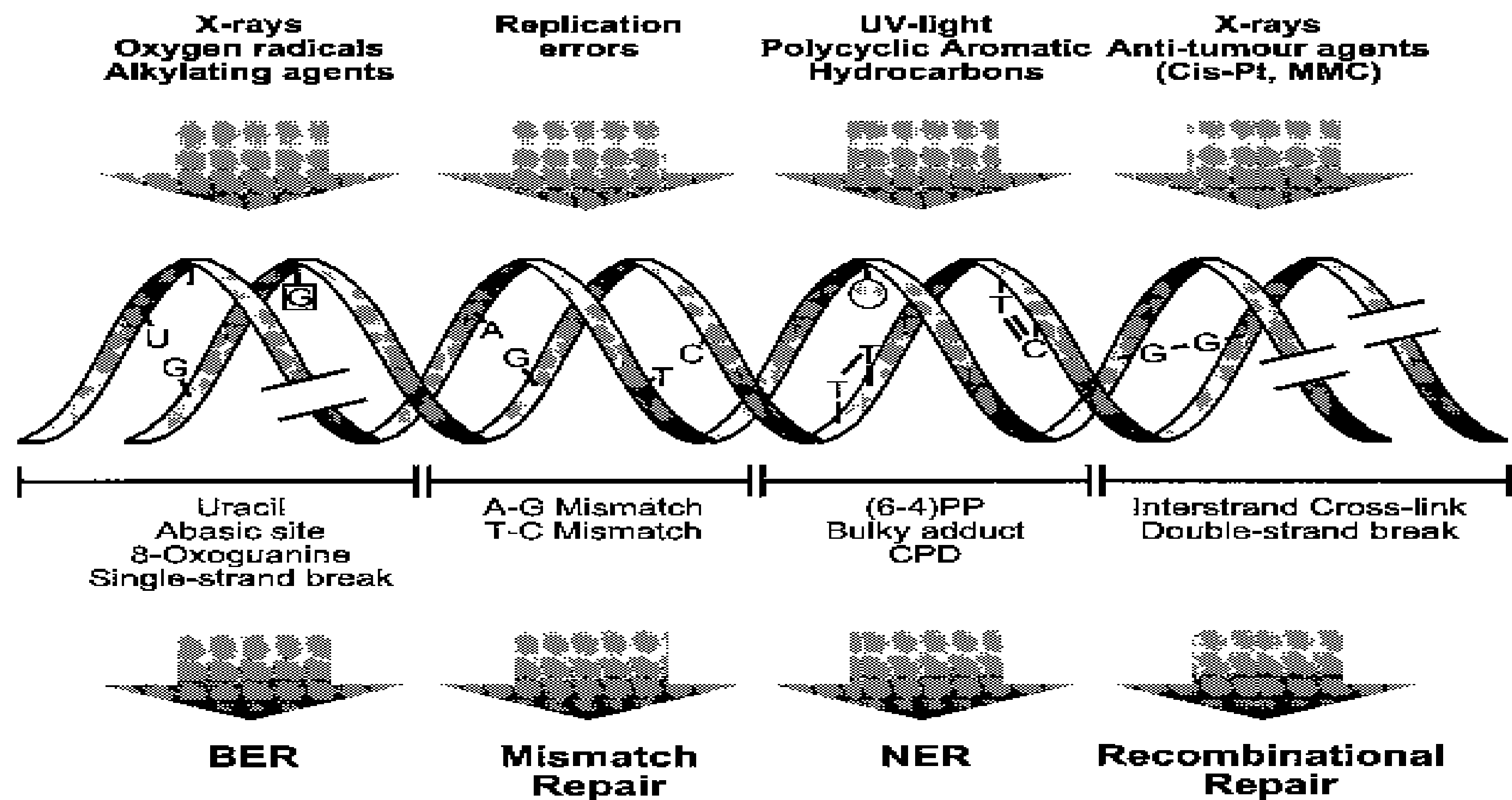
HR leads to accurate repair, while NHEJ is intrinsically mutagenic.





Homologous recombination
3'
5'
5'
3'
DSB occurs
RecA
Resection;
RecA binds
RecA directs strand
invasion; D-loop forms
Strand extrusion
Second end capture


HR repair of one-ended DSB
5'
3'
One-ended DSB
RecA
Resection;
RecA binds
RecA directs strand
invasion; D-loop forms
D-loop extension
Holliday
junction
Resolvase cleaves
Holliday junction

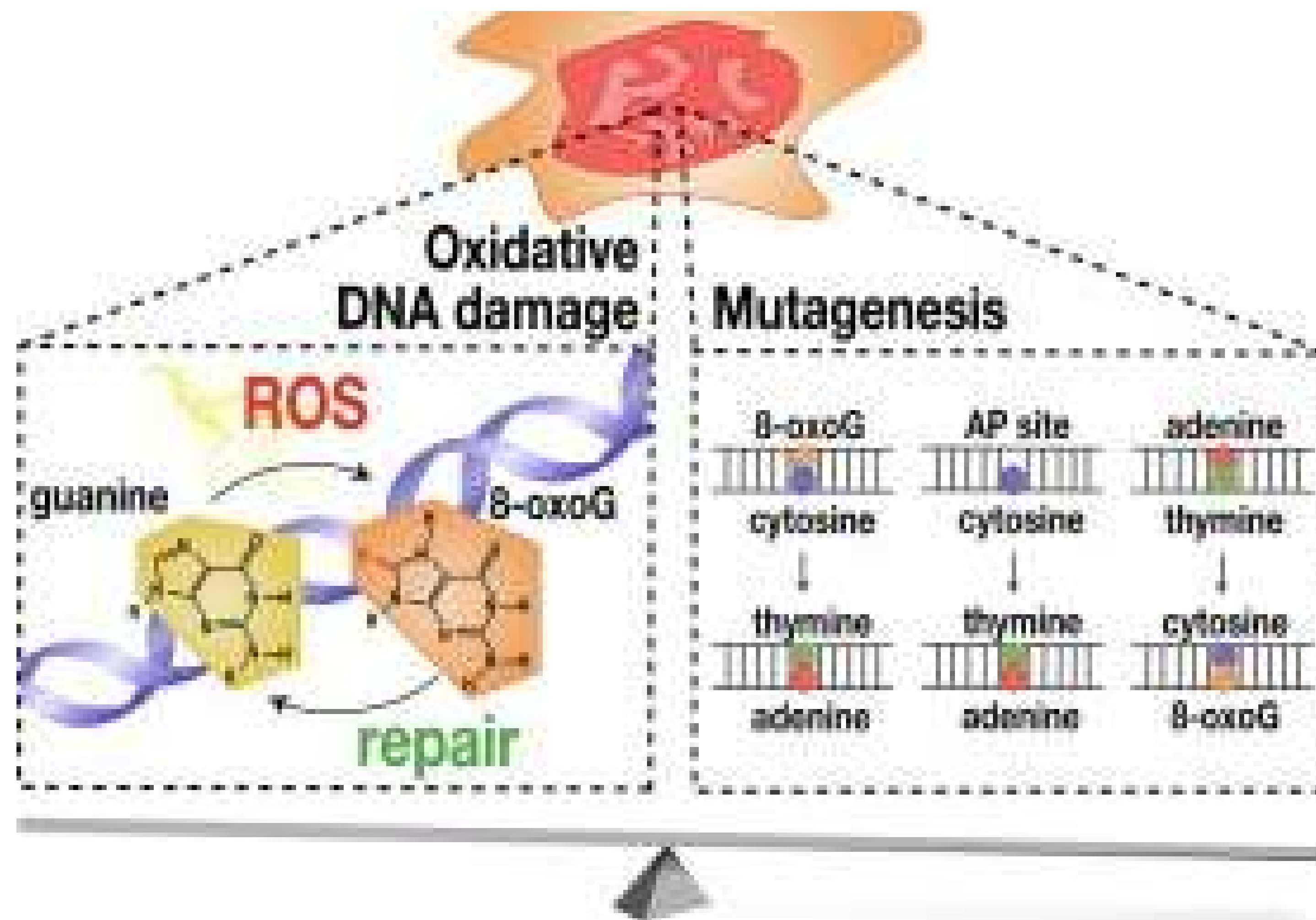

X-rays
Oxygen radicals
Alkylating agents
Replication
errors
UV-light
Polycyclic Aromatic
Hydrocarbons
X-rays
Anti-tumour agents
(Cis-Pt, MMC)
U
G
G
A
G
C
T
T
T
T
C
G-G
Uracil
Abasic site
8-Oxoguanine
Single-strand break
A-G Mismatch
T-C Mismatch
(6-4)PP
Bulky adduct
CPD
Interstrand Cross-link
Double-strand break
BER
Mismatch
Repair
NER
Recombinational
Repair
REPAIR PROCESS

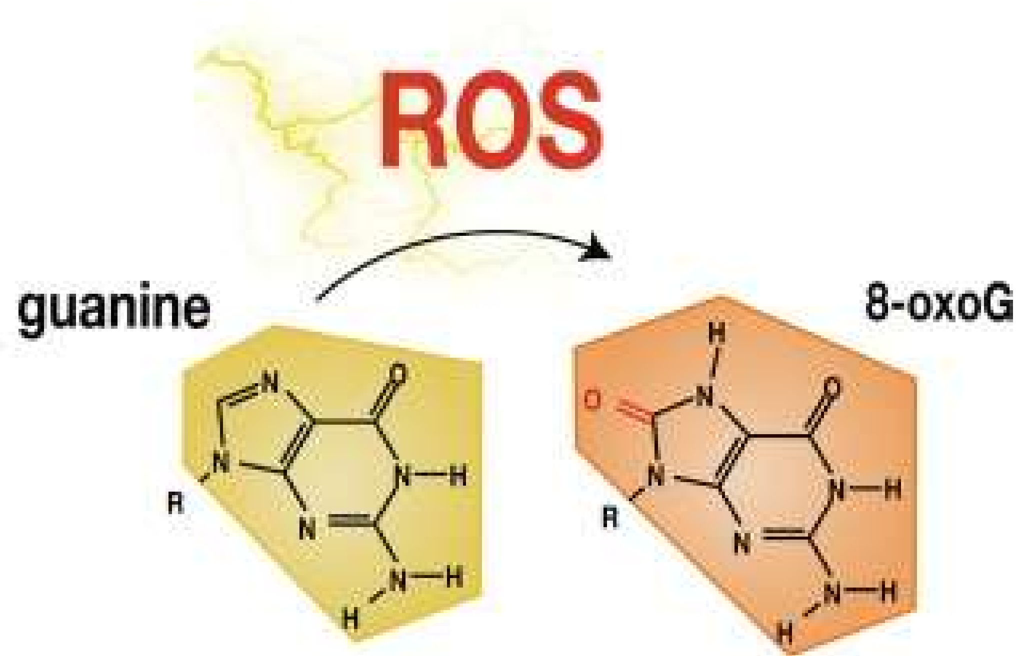
MUTAGENIC SOURCE	Oxygen radicals Intercellular reactions Alkylating agents Ionizing radiation	UV light Crosslinking agents	Replication errors	Replication stress Alkylating agents Ionizing radiation		Crosslinking agents
DNA LESION	Base modifications, Abasic sites	Intra-strand crosslinks Bulky adducts (CPDs, 6-4PPs)	Mismatches Indels	Double strand breaks (DSBs)		Inter-strand crosslinks
REPAIR PATHWAY	Base Excision Repair (BER)	Nucleotide Excision Repair (NER)	Mismatch Repair (MMR)	Homologous Recombination (HR)	Non-Homologous End Joining (NHEJ)	Fanconi Anemia (FA)
CANCER SYNDROMES	Not yet reported	Xeroderma Pigmentosum ERCC6L2 Deficiency	Constitutional MMR Syndrome	Ataxia Telangiectasia Nijmegen Breakage Bloom Syndrome Rothmund-Thompson	Ligase IV Deficiency XLF/NHEJ1 Deficiency Rothmund-Thompson Werner Syndrome	Fanconi Anemia

DNA repair disorders associated with cancer predisposition in pediatric population. Several DNA damage sources cause unique DNA lesions that are repaired by specific DNA repair pathways.

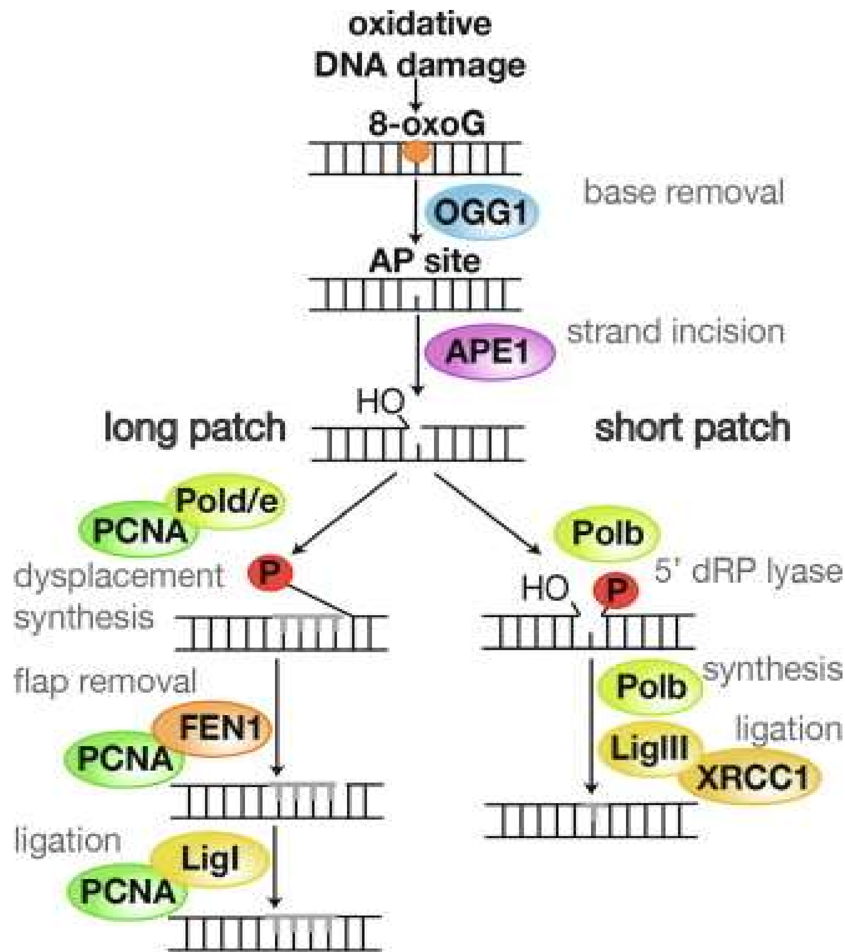
Biallelic mutations in NER, MMR, HR, NHEJ, and FA/HR cause cancer predisposition syndromes of childhood.

MUTAGENIC SOURCE	Oxygen radicals Intercellular reactions Alkylating agents Ionizing radiation	UV light Crosslinking agents	Replication errors	Replication stress Alkylating agents Ionizing radiation		Crosslinking agents
DNA LESION	Base modifications, Abasic sites	Intra-strand crosslinks Bulky adducts (CPDs, 6-4PPs)	Mismatches Indels	Double strand breaks (DSBs)		Inter-strand crosslinks
REPAIR PATHWAY	Base Excision Repair (BER)	Nucleotide Excision Repair (NER)	Mismatch Repair (MMR)	Homologous Recombination (HR)	Non-Homologous End Joining (NHEJ)	Fanconi Anemia (FA)
CANCER SYNDROMES	Not yet reported	Xeroderma Pigmentosum ERCC6L2 Deficiency	Constitutional MMR Syndrome	Ataxia Telangiectasia Nijmegen Breakage Bloom Syndrome Rothmund-Thompson	Ligase IV Deficiency XLF/NHEJ1 Deficiency Rothmund-Thompson Werner Syndrome	Fanconi Anemia

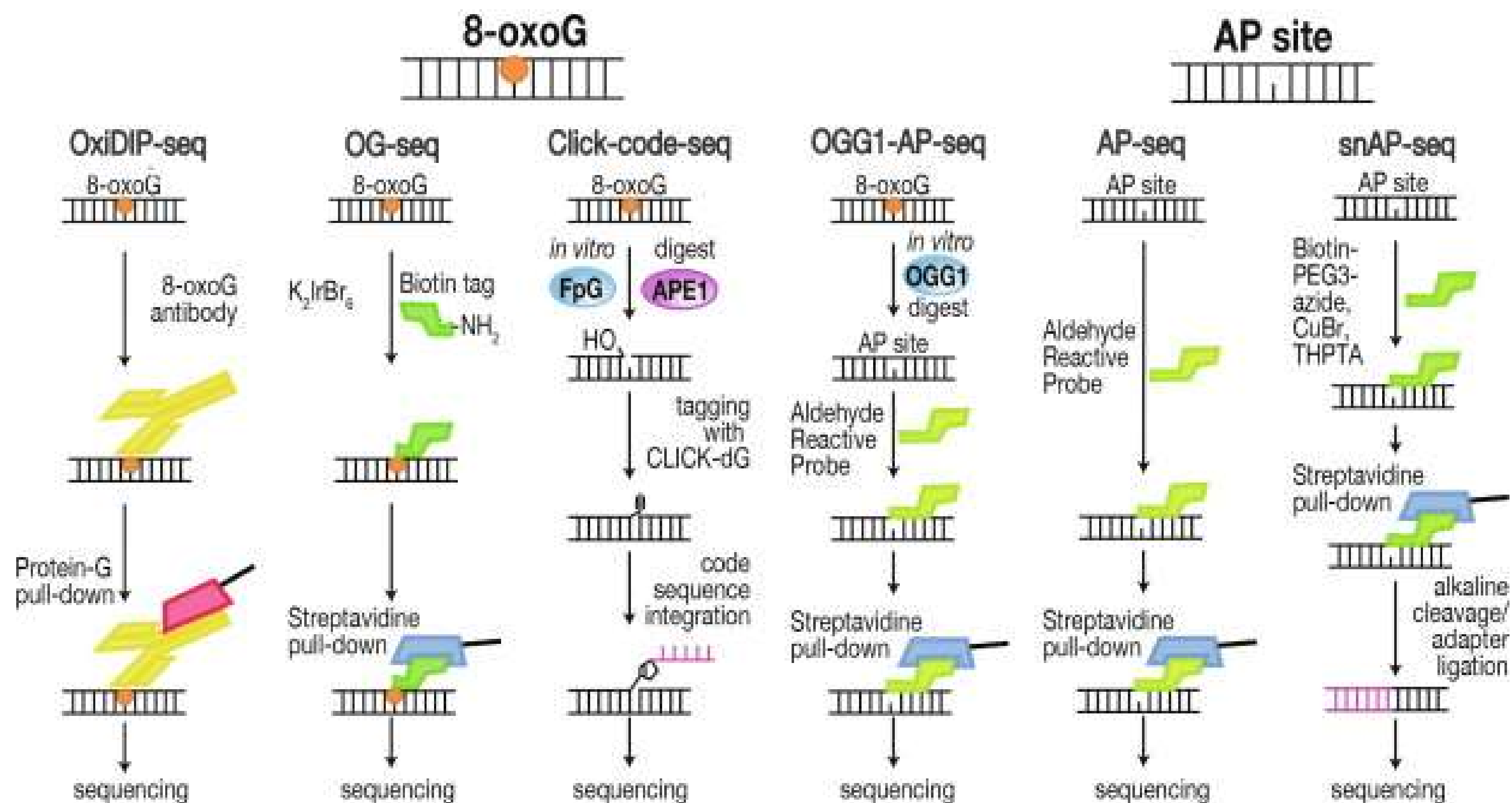

Oxidative
DNA damage
Mutagenesis
ROS
guanine
8-oxoG
repair
8-oxoG
cytosine
thymine
adenine
AP site
cytosine
thymine
adenine
adenine
thymine
cytosine
8-oxoG

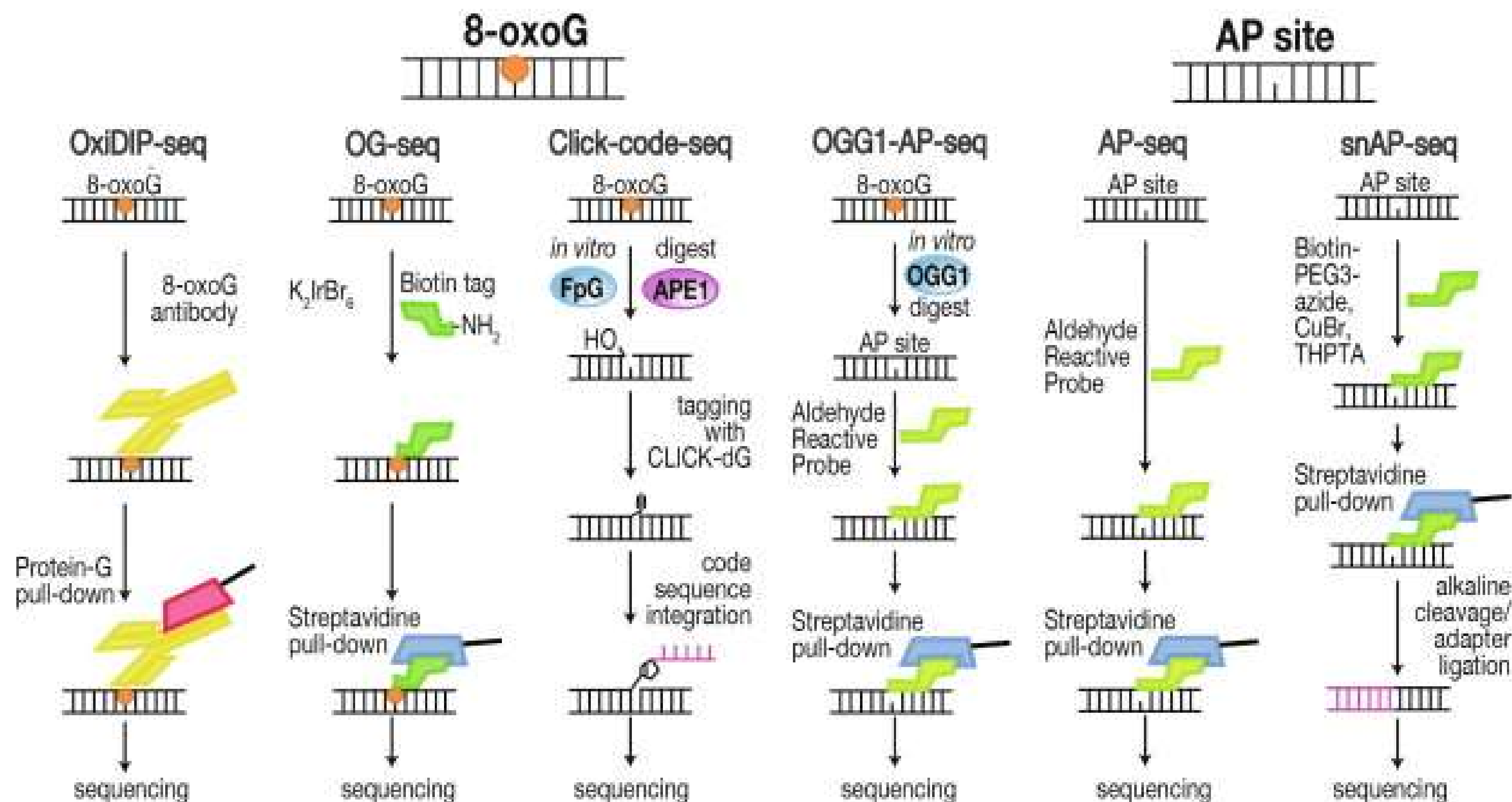


8-oxo-7,8-Dihydroguanine (8-oxoG). Under conditions of oxidative stress, 8-oxoG is the result of reactive oxygen species (ROS) modifying a guanine.



Base excision repair (BER) of 8-oxo-7,8-dihydroguanine (8-oxoG). Oxidative DNA damage is repaired via several repair intermediates by base excision repair (BER). Through removal of the oxidized base, a reactive apurinic site (AP site) is formed. Incision of the strand creates a single strand break, and the damaged site is then repaired through either short or long patch BER (for details, please see main text).


8-oxoG
AP site
OxiDIP-seq
OG-seq
Click-code-seq
OGG1-AP-seq
AP-seq
snAP-seq
8-oxoG
AP site
8-oxoG antibody
Protein-G pull-down
sequencing
K_2IrBr_6
Biotin tag
$-NH_2$
Streptavidine pull-down
in vitro digest
FpG
APE1
HO
tagging with CLICK-dG
code sequence integration
OGG1
Aldehyde Reactive Probe
Biotin-PEG3-azide, CuBr, THPTA
alkaline cleavage/ adapter ligation


8-oxoG
AP site
OxiDIP-seq
8-oxoG
8-oxoG antibody
Protein-G pull-down
sequencing
OG-seq
8-oxoG
K2IrBr6
Biotin tag
NH2
Streptavidine pull-down
sequencing
Click-code-seq
8-oxoG
in vitro
digest
FpG
APE1
HO
tagging with CLICK-dG
code sequence integration
sequencing
OGG1-AP-seq
8-oxoG
in vitro
OGG1
digest
AP site
Aldehyde Reactive Probe
Streptavidine pull-down
sequencing
AP-seq
AP site
Aldehyde Reactive Probe
Streptavidine pull-down
sequencing
snAP-seq
AP site
Biotin-PEG3-azide, CuBr, THPTA
Streptavidine pull-down
alkaline cleavage/ adapter ligation
sequencing

MUTAGENIC SOURCE	Oxygen radicals Intercellular reactions Alkylating agents Ionizing radiation	UV light Crosslinking agents	Replication errors	Replication stress Alkylating agents Ionizing radiation		Crosslinking agents
DNA LESION	Base modifications, Abasic sites	Intra-strand crosslinks Bulky adducts (CPDs, 6-4PPs)	Mismatches Indels	Double strand breaks (DSBs)		Inter-strand crosslinks
REPAIR PATHWAY	Base Excision Repair (BER)	Nucleotide Excision Repair (NER)	Mismatch Repair (MMR)	Homologous Recombination (HR)	Non-Homologous End Joining (NHEJ)	Fanconi Anemia (FA)
CANCER SYNDROMES	Not yet reported	Xeroderma Pigmentosum ERCC6L2 Deficiency	Constitutional MMR Syndrome	Ataxia Telangiectasia Nijmegen Breakage Bloom Syndrome Rothmund-Thompson	Ligase IV Deficiency XLF/NHEJ1 Deficiency Rothmund-Thompson Werner Syndrome	Fanconi Anemia

Mutations : altérations de l'information génétique

- La mutation est une modification héritable de la séquence du génome d'un organisme. Ces évènements modifient la séquence d'ADN et ainsi le phénotype de l'individu.

- Le phénotype correspond à l'ensemble des caractères observables de l'individu.

- Les mutations peuvent être transmises à la descendance si elles se réalisent dans des génomes de cellules germinales ou précurseurs de cellules germinales. Les mutations de cellules somatiques entraînent des modifications au sein même de l'individu.

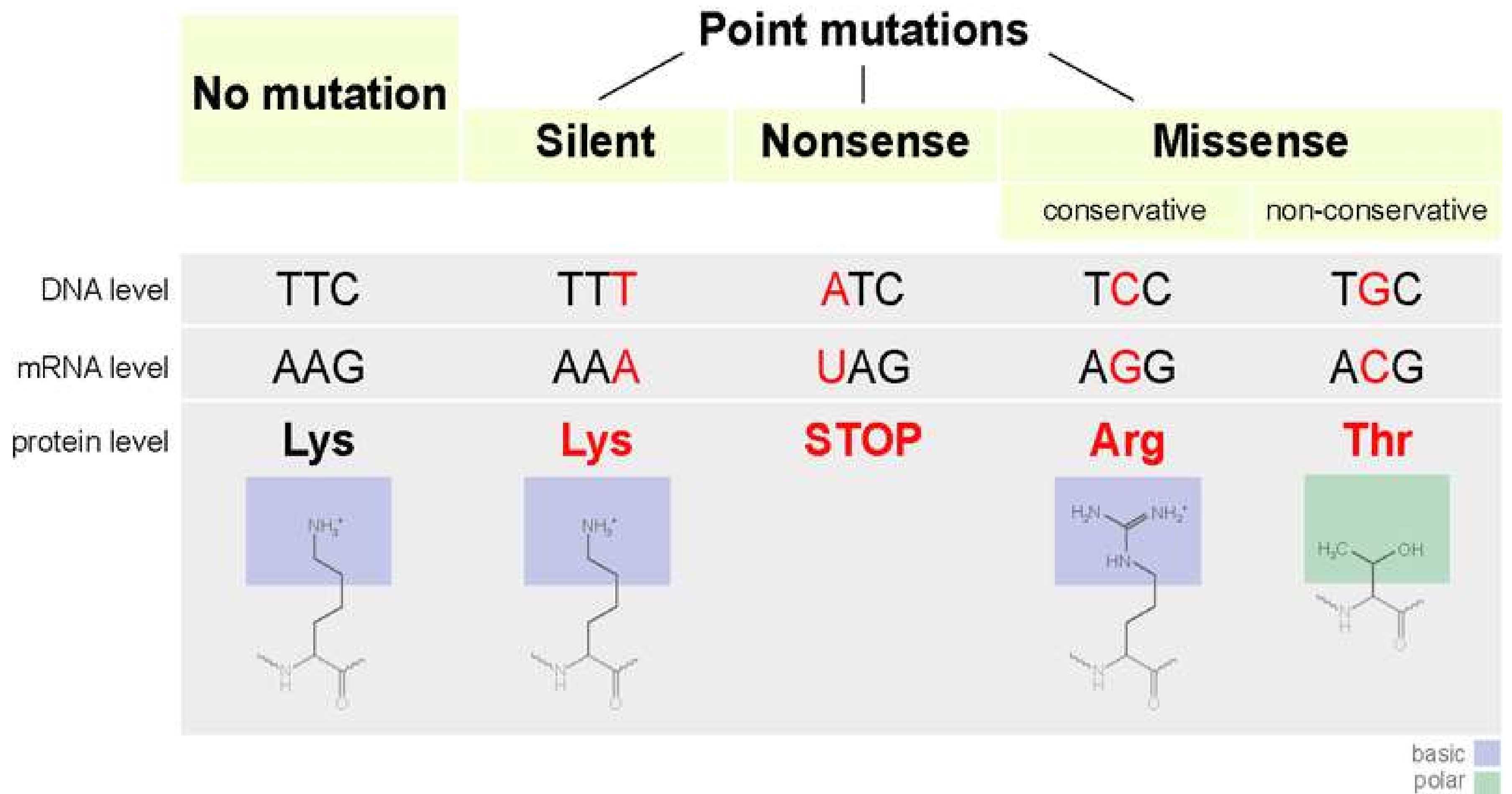
- Ces mutations permettent l'évolution de l'espèce, mais malheureusement elles sont responsables d'un grand nombre de maladies. Le plus souvent ces modifications sont des mutations ponctuelles : substitution, additions et délétion de bases.

Additions ou délétions de bases

- Les additions et les délétions de bases correspondent respectivement, comme leurs noms l'indiquent, à des ajouts ou pertes de bases.
- Si l'addition ou la délétion de nucléotides n'est pas un multiple de 3, il y aura décalage du cadre de lecture (*frame-shift*).
- En effet si l'addition ou la délétion est un multiple de 3 il y aura addition ou délétion d'acides aminés au niveau de la protéine finale.
- **Le décalage du cadre de lecture peut entraîner des séquences d'acides aminés totalement différentes et des apparitions de codons stop.**

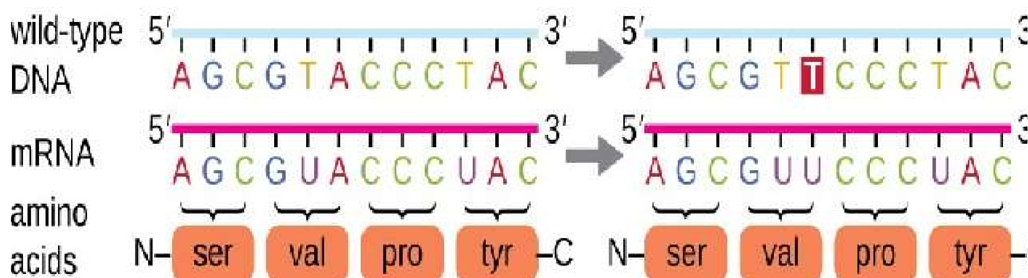
Substitutions de bases

- **Les substitutions de bases peuvent être de deux types : transition ou transversion de base.**
  - La **transition** correspond au remplacement d'une purine par une purine ou d'une pyrimidine par une pyrimidine. Ainsi une paire de bases A-T est remplacée par une paire de bases G-C.
  - La **transversion** correspond au remplacement d'une purine par une pyrimidine ou d'une pyrimidine par une purine.
- Les mutations entraînant le changement d'acides aminés sont des **mutations faux-sens**.
- Lorsque la mutation n'entraîne pas de modification d'acides aminés, et ceci dû à la redondance du code génétique en position 3, on parle de **mutation silencieuse**.
- Lorsque la substitution entraîne l'apparition d'un codon stop (UAA, UGA et UAG), la mutation est une **mutation non-sens**.

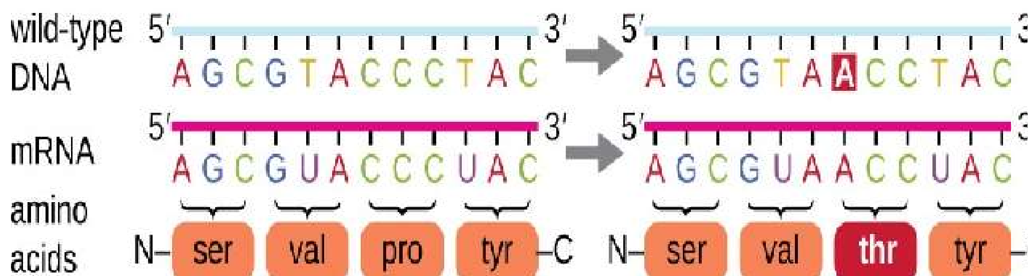

Point mutations
No mutation
Silent
Nonsense
Missense
conservative
non-conservative
DNA level
TTC
TTT
ATC
TCC
TGC
mRNA level
AAG
AAA
UAG
AGG
ACG
protein level
Lys
Lys
STOP
Arg
Thr
basic
polar

point mutation: substitution of a single base

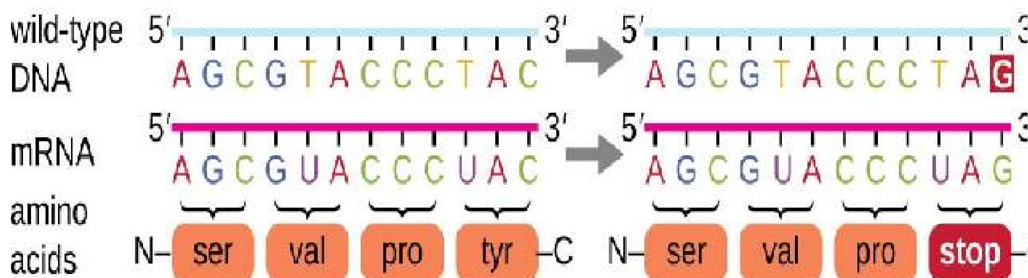
silent: has no effect on the protein sequence



missense: results in an amino acid substitution

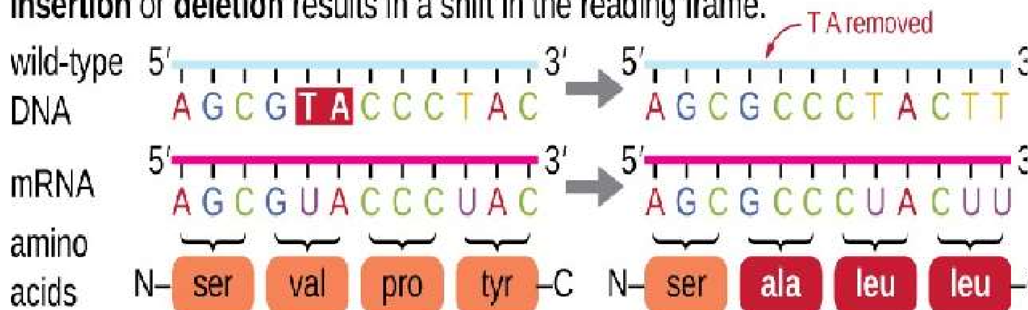


nonsense: substitutes a stop codon for an amino acid



frameshift mutation: insertion or deletion of one or more bases

Insertion or **deletion** results in a shift in the reading frame.



Lésions ou dommages de l'ADN

- Les lésions sont soit endogènes sans agents exogènes, soit provoquées par des agents pathogènes (ou mutagènes) qui peuvent être physiques ou chimiques.
- Les **agents mutagènes** sont des agents capables de produire des lésions de l'ADN par effet direct ou indirect.
  - **Les agents mutagènes physiques correspondent aux rayonnements X ou γ, aux rayonnements UV et à la chaleur.**
  - **Les agents mutagènes chimiques sont essentiellement sous la forme de radicaux super-oxydes (O2-) qui peuvent oxyder de manière non catalytique les molécules biologiques et les engager dans des réactions chimiques incontrôlées.**

Lésions endogènes sans agents exogènes

- **Ces lésions ne sont pas soumises à des agents exogènes et sont ponctuelles.**
- **Des mauvaises incorporations de bases :** association de l'adénine avec la cytosine et de la thymine avec la guanine…
- **Des dépurinations et dépyrimidations** qui correspondent à des pertes de bases par hydrolyse de la liaison β-N-glycosidique. Ces pertes sont spontanées à pH acide par rupture de la liaison N-glycosidique. Suite à ces pertes d'informations la polymérase ne sait pas quelle base incorporer, il y a ainsi formation d'un site AP.
- **Des désaminations** qui correspondent à des pertes de groupement amine sur les bases C, A et G. Les désaminations sont dues à des excès de chaleur. L'adénine est transformée en hypoxanthine, la guanine en xanthine et la 5-méthylcytosine en thymine.
- **Des erreurs de méthylations**, en effet les méthylations sont normales, participent à l'expression du gêne et se réalisent souvent au niveau des îlots CpG.
  - Les erreurs de méthylations donnent des alkylations sur le carbone C6 au lieu du carbone C5 entraînant des absences de formation de liaisons H entre bases.

a) Les lésions dues à des mutagènes physiques :

- **Formation de dimères de Thymine** (TpT) qui correspondent à la formation de liaisons covalentes entre deux Thymine. Ces dimères de Thymine créent des distorsions de l'hélice d'ADN et peuvent être fixés par action de l'UV.
- **Ionisation de bases et coupures simple ou double brin de l'ADN par rupture du D-ribose** dus aux rayonnements ionisants : rayons X et rayons γ.
- **Désamination**, en effet les excès de chaleur peuvent également avoir une origine exogène.

Les lésions dues à des mutagènes chimiques :

- **Formation de lésions oxydatives** par des ERO (espèces réactives oxygénées) qui peuvent être exogène ou endogène. Elles correspondent à des oxydations de bases provoquées par des agents super-oxyde (°O2-, H_2O_2 et °OH).
- **Addition de molécules exogènes** qui créent également des distorsions de l'ADN. On compte les aflatoxines, les benzantracènes, les agents alkylants, les agents intercalants, le cis-platine ...

Mécanismes de réparation procaryote (*E-Coli*)

- **1) <u>Mécanismes prenant place en dehors de la période de réplication</u>**
  - **a) <u>Réparation par réversions des lésions :</u>**
  - Ce type de réparation utilise très peu de protéines et restore immédiatement les liaisons.
    - **Photo-réactivation :** les photolyases sont des enzymes activées par l'énergie lumineuse et qui participent à la réparation de l'ADN par coupure des liaisons covalentes au niveau des dimères de thymine.
    - **Réversion de coupure simple brin :** par une ADN ligase lorsqu'il n'y a pas de pertes de bases.
    - **Réversion de dépurination par une purine insertase :** restore la liaison osidique, enzyme spécifique d'une base.

Mécanismes de réparation procaryote (E-Coli)

- **1) <u>Mécanismes prenant place en dehors de la période de réplication</u>**
  - **b) <u>Réparation par excision de base (système BER) :</u>**
  - Ce mécanisme est présent chez les procaryotes et les eucaryotes et essentiellement impliqué dans les réparations de mutations endogènes jusqu'à 4 nucléotides. Le système BER permet l'élimination des bases anormales et la réparation du site AP.
  - L'**ADN glycosylase** coupe la liaison N-glycosidique entre la base anormale et le désoxyribose, entraînant l'apparition d'un site AP.
    - Il y a uniquement extraction de la base sans coupure de liaison phosphodiester. Il existe de nombreuses glycosilases dans la cellule, chacune reconnaît une (plusieurs) base(s) modifiées différentes.
    - Une endonucléase 3'-5' coupe la liaison phosphodiester adjacente au site AP, l'ADN-polymérase I enlève le site AP et synthétise le morceau d'ADN manquant, puis l'ADN-ligase met en place la liaison Phosphodiester manquante.

Mécanismes de réparation procaryote (E-Coli)

- 1) **Mécanismes prenant place en dehors de la période de réplication**
- **C. Réparation par excision de nucléotides (système NER) :**
  - Ce mécanisme est présent chez les procaryotes et les eucaryotes et permet la réparation de plusieurs nucléotides. Il prend également en compte une endonucléase 3’-5’, l’ADN-polymérase I et l’ADN-ligase.
  - Le système NER correspond au mécanisme de réparation par les UV (UVr). Le complexe UVr A, B, C, D reconnaît les distorsions de l’ADN.

Mécanismes de réparation liés à la période de réplication

- **a) <u>Réparation de mésappariements par le système Mut HLS</u>**
- Ce mécanisme est également présent chez les procaryotes et les eucaryotes et est post-réplicatif. Il permet la réparation des erreurs d'appariement entre les chaînes d'ADN après la réplication ainsi que les petites délétions ou additions. Le mécanisme Mut HLS nécessite la reconnaissance du brin néosynthétisé de l'ADN grâce aux méthylations des adénines du brin anciennement synthétisé de l'ADN, ceci permettant la distinction entre les deux brins. Une endonucléase rompt ensuite le brin néosynthétisé et la partie portant la lésion est éliminée.
- Mut S reconnaît le mésappariement, Mut L se lie et active Mut H et Mut H est une endonucléase qui coupe en aval de l'erreur du mésappariement. Il y a ensuite action d'une exonucléase et d'une Hélicase, puis de l'ADN-polymérase I et finalement de la ligase.

Mécanismes de réparation liés à la période de réplication

- <u>**Réparation par recombinaison**</u>
- La réparation par recombinaison correspond à la **synthèse translésionnelle** (**TLS**) qui consiste à poursuivre la réplication de l'ADN au niveau d'une lésion du brin matriciel de l'ADN ne permettant aucun appariement. Elle se réalise en même temps que la réplication.
- L'ADN-polymérase II a un rôle important dans la reprise de la synthèse d'ADN après la lésion, l'ADN-polymérase III est alors transitoirement expulsée pour que la réplication puisse continuer.
- L'ADN-polymérase III arrive au niveau d'une erreur et est éjectée par les enzymes de la TLS qui remplacent la base erronée ou alors qui permet la poursuite de la réplication un peu plus loin (ceci suivant l'ADN-polymérase utilisé (II, IV ou V)).

<u>**Remarque :**</u>

- La TLS est généralement mutagène, en effet elle place juste des nucléotides, pas forcément les bons, à l'endroit où se situe la lésion du brin matriciel, et ceci pour permettre la poursuite de la réplication de l'ADN, …
- Les polymérases impliquées dans la TLS : Pol II, IV et V (pas d'activité exo 3'5') mais aussi Pol III.

Le système SOS chez E-coli

- Le système SOS regroupe un ensemble de gènes (env. 30) qui est impliqué dans la réplication de l'ADN, dans la réparation de l'ADN et dans la division cellulaire et dont l'expression est contrôlée par une altération de l'ADN.
- **Le système SOS fonctionne comme un système de type opérateur, on se trouve face à deux états, qui utilisent ou non les protéines Rec A qui sont les protéines clé de la recombinaison procaryote :**
  - **Un état non induit**, **sans Rec A**, durant lequel Lex A se lie aux opérateurs en réprimant la synthèse des protéines impliquées dans la réponse SOS de la cellule, les gènes ne sont donc pas exprimés.
  - **Un état induit**, **avec Rec A** qui est toujours présent dans la cellule mais en petites quantités.
    - Lors d'une altération les protéines Rec A activent leurs propres synthèses en clivant les protéines Lex A qui inhibaient jusqu'alors la transcription des gènes du système SOS dont celui de Rec A.
  - Les différents gènes participant au système SOS forment un **régulon** qui est un groupe de gènes dont l'expression est contrôlée par une même protéine.

Le système S.O.S.

- synthèse de RecA est réprimée par LexA
- Si un besoin important de protéine RecA apparaît, la répression est levée grâce à une propriété particulière de la protéine RecA qui est capable de cliver son répresseur.



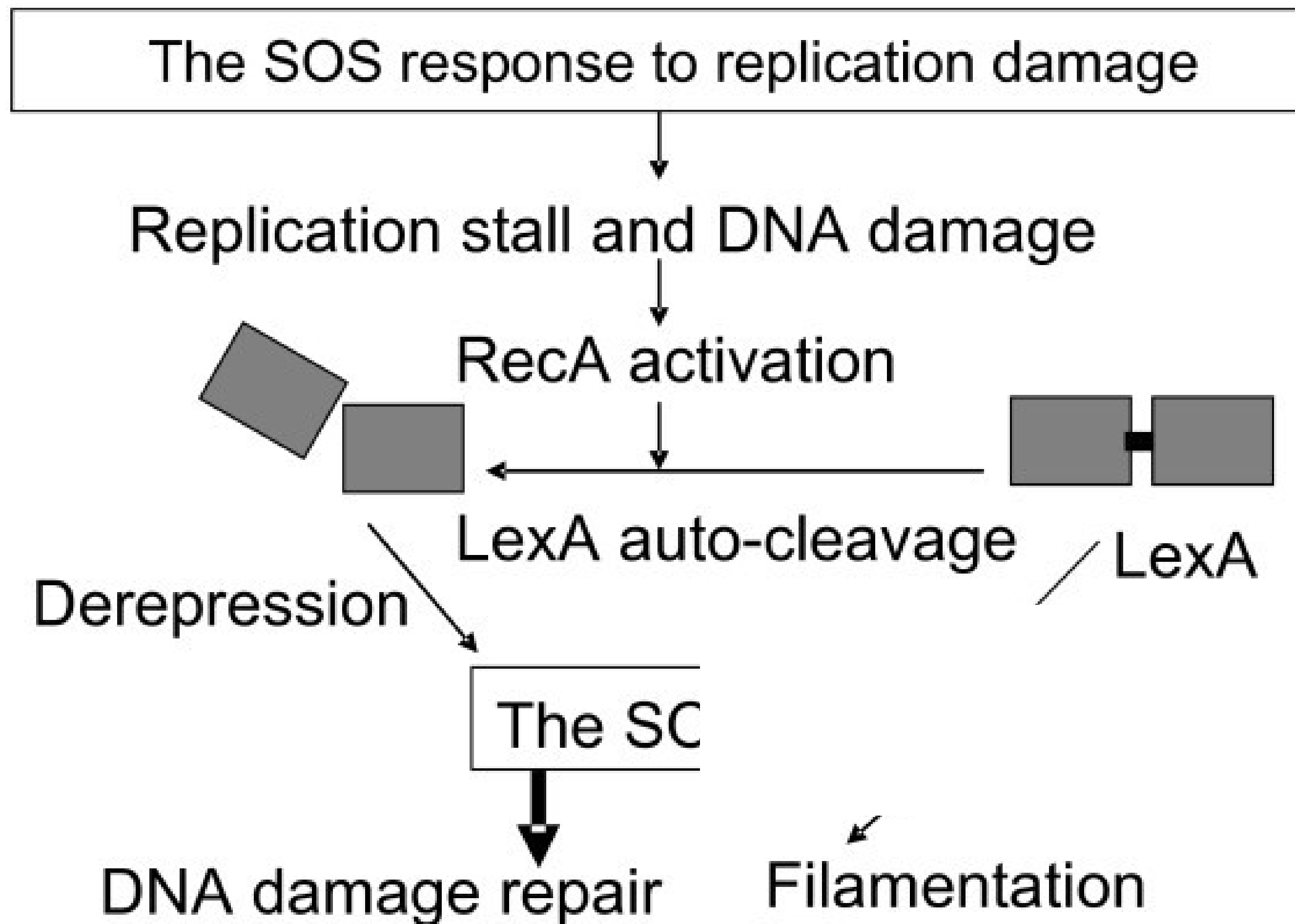
➢ Le système S.O.S.

- **Le système S.O.S. a été décrit initialement chez les bactéries.**

- **Il concerne au moins une vingtaine de gènes dont les produits protéiques sont impliqués dans les mécanismes de réparation et de recombinaison.**

- **Ce système est remarquable parce qu'il est inductible, c'est-à-dire mis en oeuvre par l'agression physique ou chimique.**

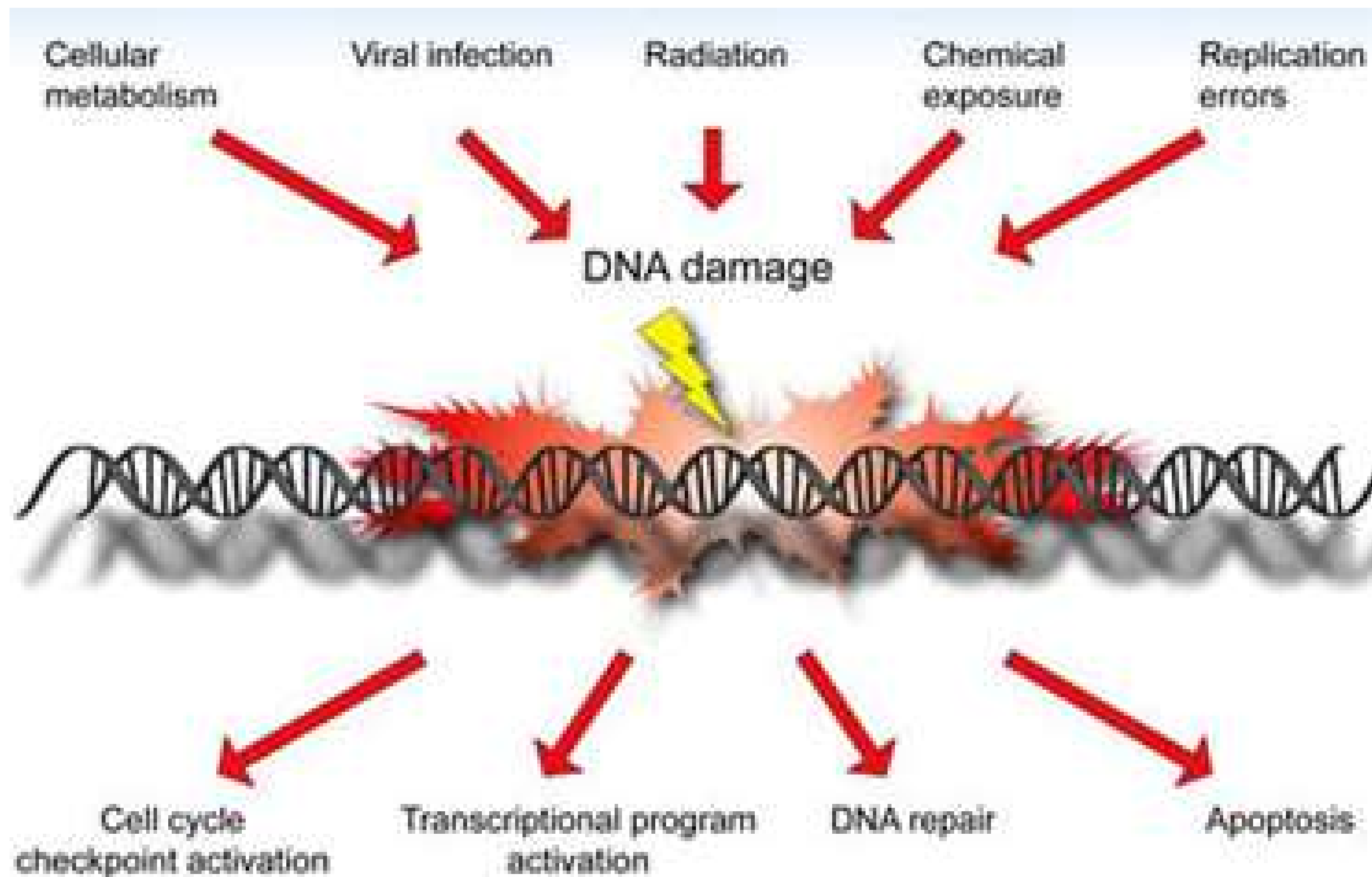
- **La protéine de recombinaison RecA joue un rôle central dans un tel mécanisme de sauvegarde. La synthèse de cette protéine est normalement réprimée par une protéine appelée LexA ou répresseur.**
- **Si un besoin important de protéine RecA apparaît, la répression est levée grâce à une propriété particulière de la protéine RecA qui est capable de cliver son répresseur.**


The SOS response to replication damage
Replication stall and DNA damage
RecA activation
LexA auto-cleavage
LexA
Derepression
The SC
DNA damage repair
Filamentation

Mécanismes de réparation eucaryote

- Les **mécanismes de réparation** ont été **hautement conservés** au cours de l'évolution : le mécanisme de réparation **eucaryote a des analogies avec E-Coli**.
- Chez l'Homme on identifie des gènes impliqués dans différents types de la réparation :
  - réversion directe du dommage, le système BER, le système NER, la réparation des mésappariements, la réparation par recombinaison.

- **Chez les eucaryotes il n'y a pas d'équivalent du système SOS** avec augmentation importantes de l'expression des protéines impliquées dans la réparation ; mais plutôt relocalisation et concentration des protéines de réparation dans des complexes sub-nucléaires.
- **Attention le système d'opéron n'existe pas chez les eucaryotes, le génome étant trop compliqué, et ainsi il n'y a donc pas de système de réparation de type SOS (donc pas de protéine de type Rec A).**


Cellular metabolism
Viral infection
Radiation
Chemical exposure
Replication errors
DNA damage
Cell cycle checkpoint activation
Transcriptional program activation
DNA repair
Apoptosis

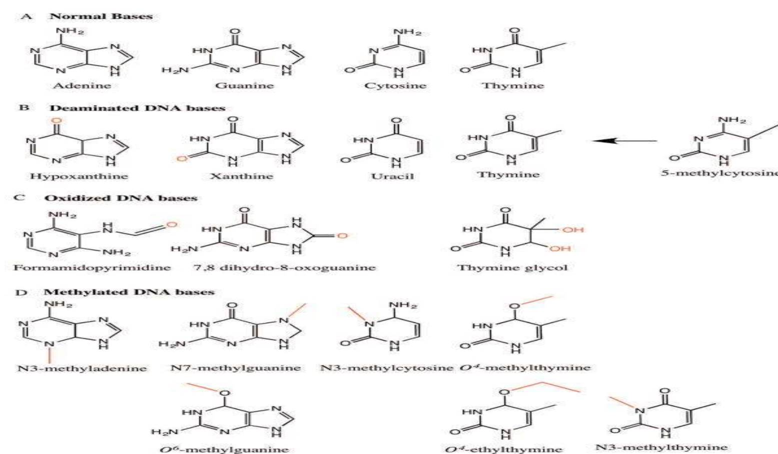
Lésions ou dommages de l'ADN

- Les lésions endogènes sans agents exogènes,
- Les lésions exogènes - provoquées par des agents pathogènes ou mutagènes qui peuvent être physiques ou chimiques.
- Les agents mutagènes sont des agents capables de produire des lésions de l'ADN par effet direct ou indirect.

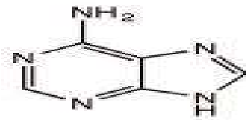
- Les agents mutagènes physiques correspondent aux rayonnements X ou γ, aux rayonnements UV et à la chaleur.

- Les agents mutagènes chimiques sont essentiellement sous la forme de radicaux super-oxydes (O2-) qui peuvent oxyder de manière non catalytique les molécules biologiques et les engager dans des réactions chimiques incontrôlées.

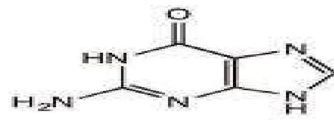
Common DNA base lesions. A) Normal structures of DNA bases: adenine (A), guanine (G), cytosine (C) and thymine (T). B) Deaminated bases: hypoxanthine, xanthine, uracil and thymine arising from deamination of exocyclic bases of adenine, guanine, cytosine and 5-methylcytosine (5-mC) respectively. C) Oxidized DNA bases: formamidopyrimidine derivative of adenine (Fapy-A), 7,8 dihydro-8-oxoguanine (8-oxo-G) and thymine glycol. D) Methylated DNA bases: N3-methyladenine, N7-methylguanine, *O*6-methylguanine, N3-methylcytosine, *O*4-methylthymine, *O*4-ethylthymine and N3-methylthymine.



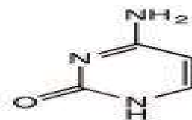
A Normal Bases



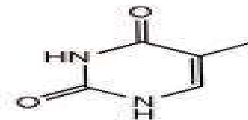
Adenine



Guanine

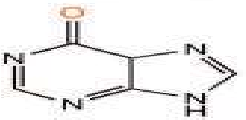


Cytosine

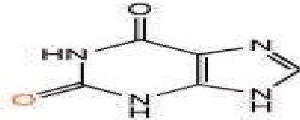


Thymine

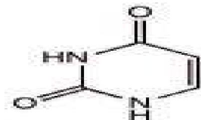
B Deaminated DNA bases



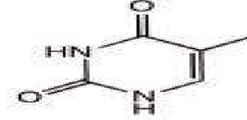
Hypoxanthine



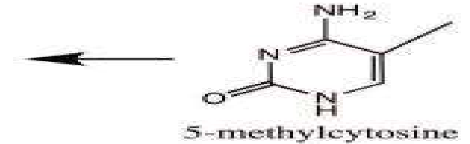
Xanthine



Uracil



Thymine

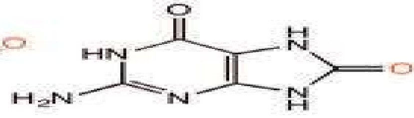


5-methylcytosine

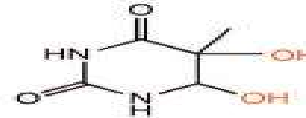
C Oxidized DNA bases



Formamidopyrimidine

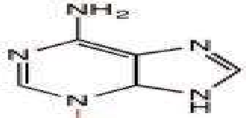


7,8 dihydro-8-oxoguanine

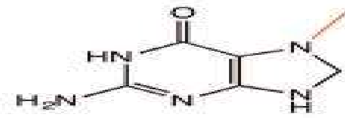


Thymine glycol

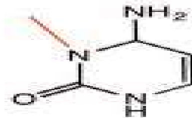
D Methylated DNA bases



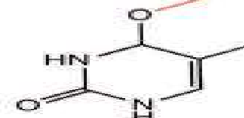
N3-methyladenine



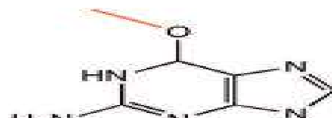
N7-methylguanine



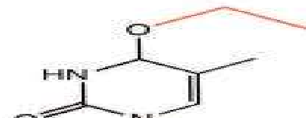
N3-methylcytosine



O^4-methylthymine



O^6-methylguanine

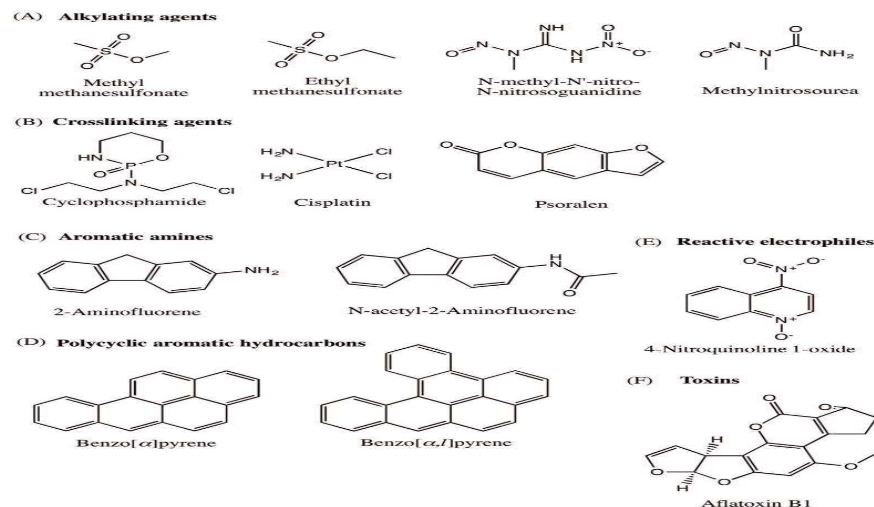


O^4-ethylthymine

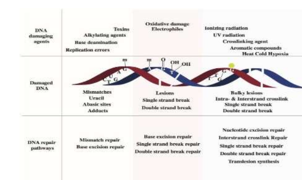


N3-methylthymine

Structures of representative DNA damaging agents. A) Alkylating agents: methyl methanesulfonate (MMS), ethyl methanesulfonate (EMS), N-methyl -N′ –nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) and methylnitrosourea (MNU). B) Crosslinking agents: Cyclophosphamide, cisplatin and psoralen. C) Aromatic amines: 2-aminofluorene (AF) and N-acetyl-2-aminofluorene (AAF). D) Polycyclic aromatic hydrocarbons: benzo(*a*)pyrene and dibenzo[*a,l*]pyrene. E) Reactive electrophiles: 4-nitroquinoline 1-oxide (4-NQO). F) Toxins: Afaltoxin B1.

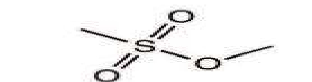


Schematic of various DNA damage-induced DNA repair pathways. A variety of DNA damaging agents can induce DNA damage, which becomes substrate for specific DNA repair pathways. Upper panel shows representative DNA damaging agents: errors from replication, spontaneous base deamination, alkylating agents, toxins, oxidative agents, ionizing radiation, UV radiation, crosslinking agents, aromatic compounds and environmental agents such as heat, cold and hypoxia. Middle panel represents different kinds of damaged DNA: base mismatches (C:T), uracil from deamination of cytosine, an abasic site from the loss of a base from one DNA strand, methylated guanine, methylated adenine, 8-oxo-G lesion, thymine glycols, single strand breaks, double strand breaks, intrastrand cyclobutane thymine dimers and interstrand guanine crosslinks. The lower panel lists the specific DNA repair pathways that are instigated to repair DNA damages: mismatch repair corrects replication errors and other base mismatches; base excision repair removes base adducts, uracil, abasic sites and oxidative lesions; single strand break repair pathways repairs single stranded breaks in the DNA backbone; double strand break repair pathway repair double strand breaks; nucleotide excision repair removes bulky lesions and intrastrand crosslinks; interstrand crosslink repair removes interstrand linkages and translesion synthesis bypasses intrastrand crosslinks and bulky lesions.

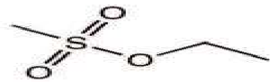


DNA damaging agents	**Toxins** **Alkylating agents** **Base deamination** **Replication errors**	**Oxidative damage** **Electrophiles**	**Ionizing radiation** **UV radiation** **Crosslinking agent** **Aromatic compounds** **Heat Cold Hypoxia**
Damaged DNA	**Mismatches** **Uracil** **Abasic sites** **Adducts**	**Lesions** **Single strand break** **Double strand break**	**Bulky lesions** **Intra- & Interstrand crosslink** **Single strand break** **Double strand break**
DNA repair pathways	**Mismatch repair** **Base excision repair**	**Base excision repair** **Single strand break repair** **Double strand break repair**	**Nucleotide excision repair** **Interstrand crosslink Repair** **Single strand break repair** **Double strand break repair** **Translesion synthesis**

(A) Alkylating agents



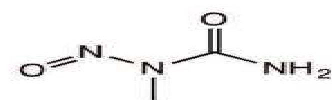
Methyl methanesulfonate



Ethyl methanesulfonate

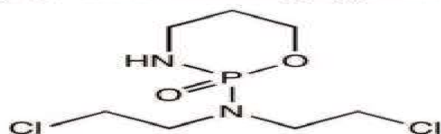


N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine



Methylnitrosourea

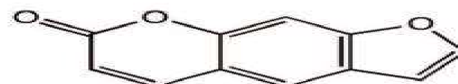
(B) Crosslinking agents



Cyclophosphamide

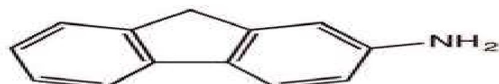


Cisplatin

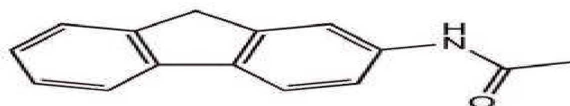


Psoralen

(C) Aromatic amines

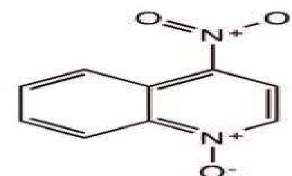


2-Aminofluorene



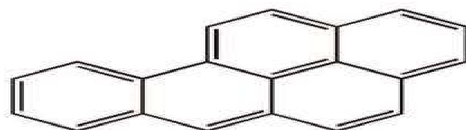
N-acetyl-2-Aminofluorene

(E) Reactive electrophiles

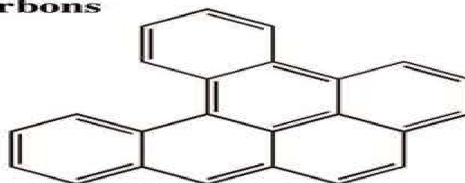


4-Nitroquinoline 1-oxide

(D) Polycyclic aromatic hydrocarbons

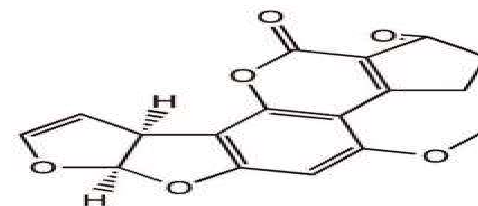


Benzo[α]pyrene

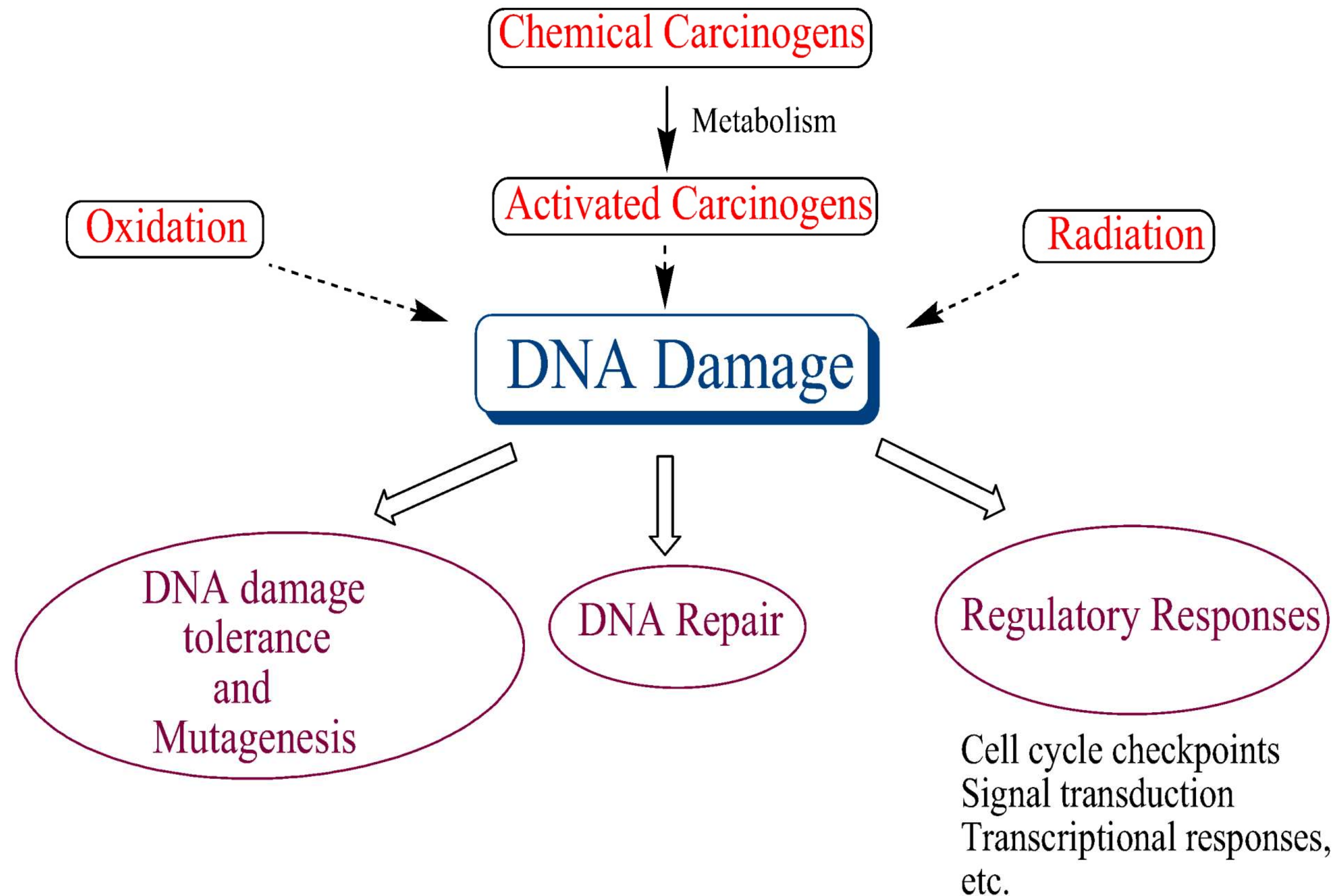


Benzo[α,l]pyrene

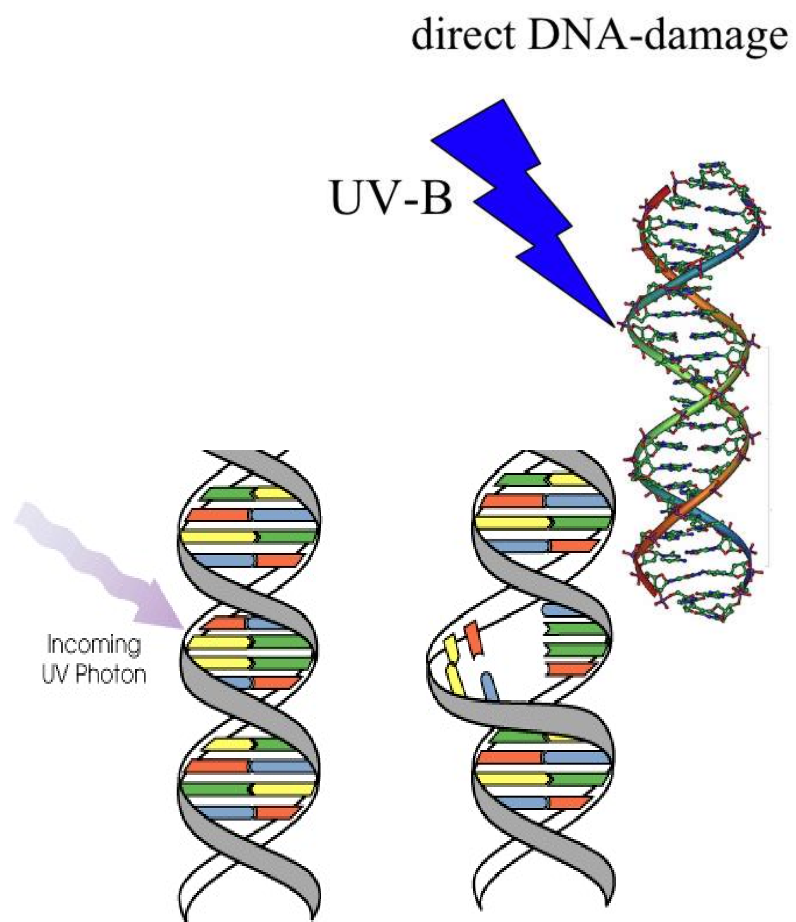
(F) Toxins

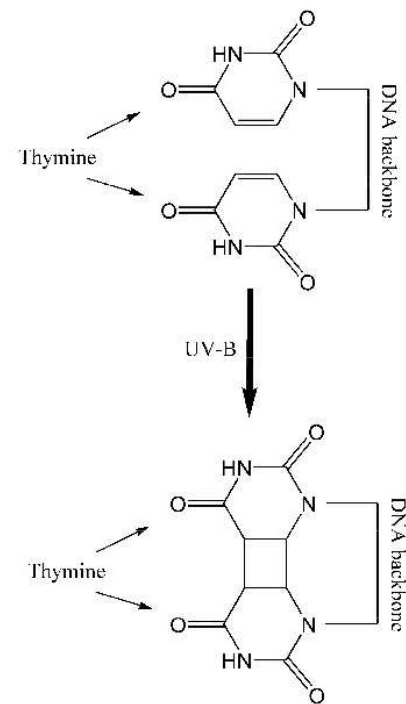


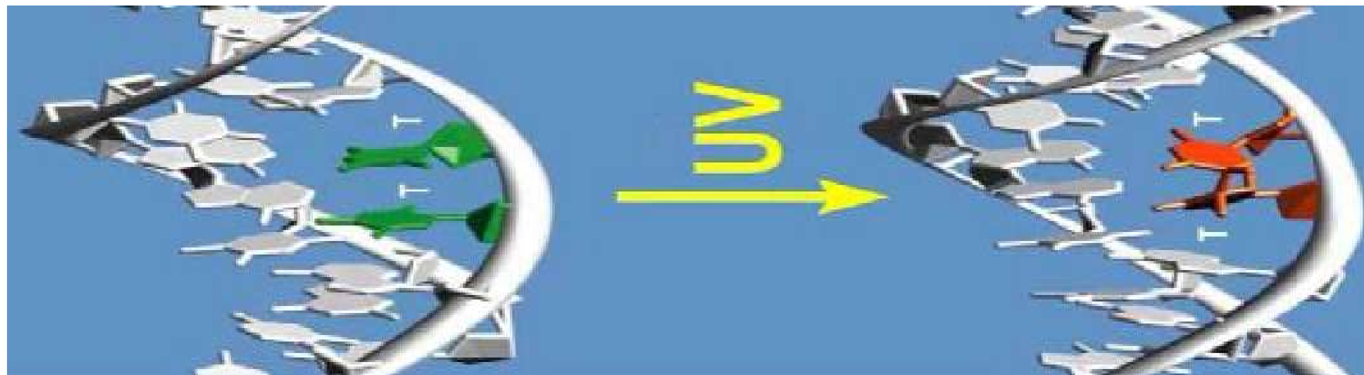
Aflatoxin B1

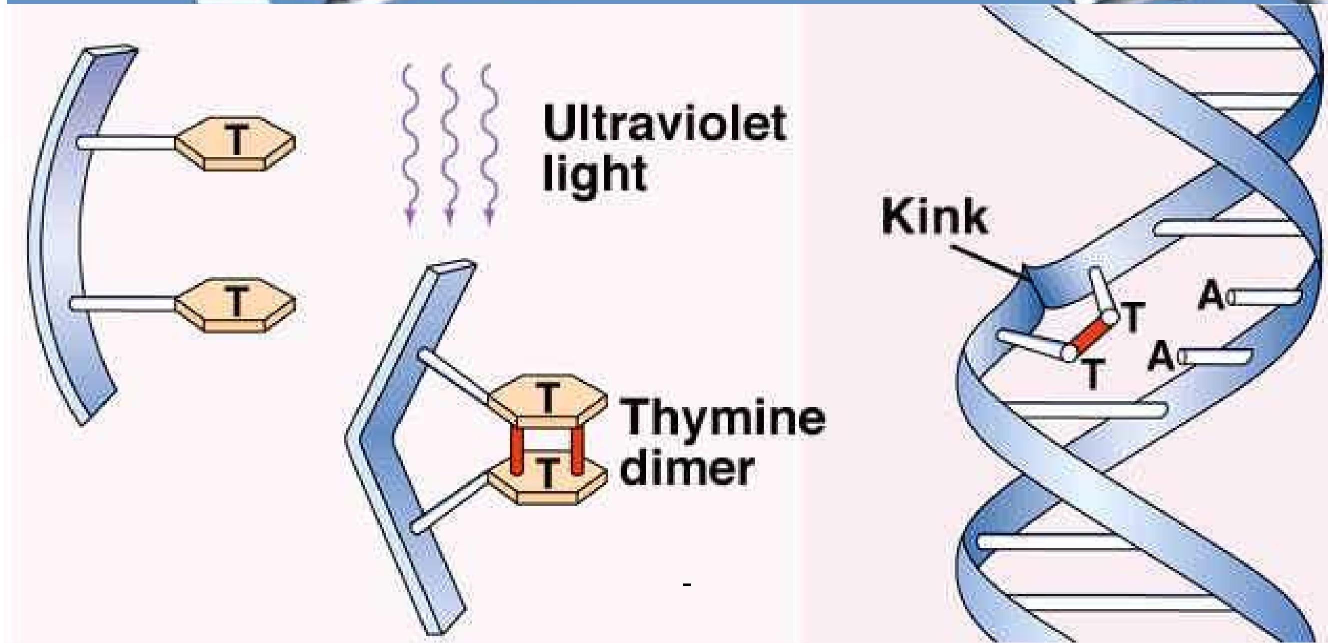

Chemical Carcinogens
Metabolism
Activated Carcinogens
Oxidation
Radiation
DNA Damage
DNA damage tolerance and Mutagenesis
DNA Repair
Regulatory Responses
Cell cycle checkpoints
Signal transduction
Transcriptional responses,
etc.

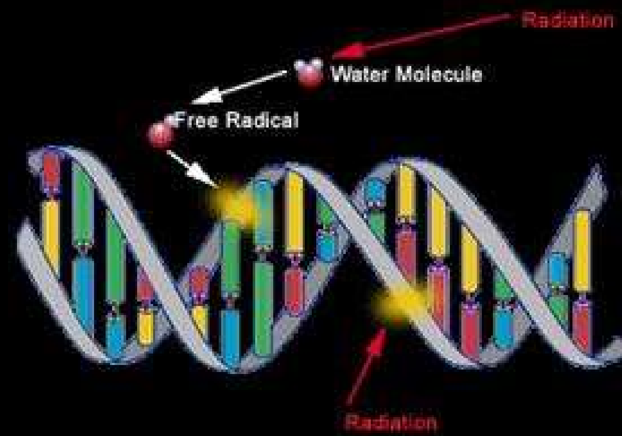
	Pyrimidine dimers	DNA adducts DNA crosslinks	Base oxidation Base hydrolysis Base damage	Single strand breaks	Double strand breaks	Replication error
DNA lesions		Crosslink (interstrand) Crosslink (intrastrand) DNA adducts	OH			
Common cause	UV	carcinogens	ROS, UV, high temperature	ionizing radiation	ionizing radiation ROS stalled replication forks	inherent in replication
Mechanisms of repair	NER	NER	BER	BER	HR NHEJ	MMR
Germline defect associated with cancer predisposition	*XPC* skin basal and squamous cell carcinoma		*MUTYH* colorectal cancer		HR: *BRCA1/BRCA2* breast and ovarian cancer	*MSH2, MLH1* colorectal and endometrial carcinoma


direct DNA-damage
UV-B
Incoming
UV Photon


Thymine
HN
N
O
DNA backbone
UV-B
Thymine
HN
N
O
DNA backbone


UV

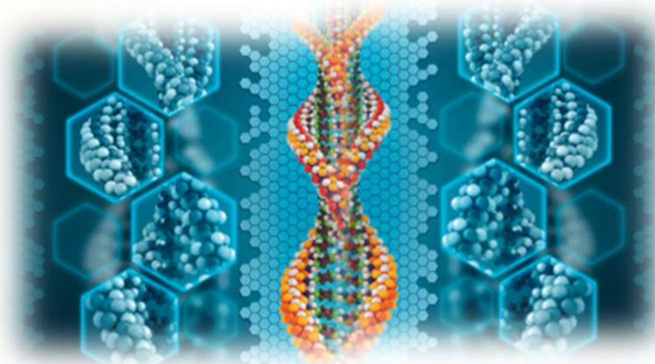

T
T
Ultraviolet
light
T
T
Thymine
dimer
Kink
A
T
T
A


Radiation
Water Molecule
Free Radical
Radiation

Réparation d'ADN

- Les systèmes de réparation peuvent reconnaître des bases :

- - lésées,
- - mal appariées ou
- - absentes



- de l'ADN,

- ou bien d'autres déformations structurales de la double hélice.

- Les systèmes de réparation par excision clivent l'ADN à proximité d'un site endommagé, enlèvent une partie du brin, et synthétisent une nouvelle séquence pour remplacer le matériel excisé.

Mécanismes de réparation procaryote

1. **Mécanismes de réparation dehors de la période de réplication**
2. **Mécanismes de réparation liés à la période de réplication**
3. **Le système SOS chez E-coli**

1-Mécanismes de réparation dehors de la période de réplication:

a. ***Réparation par réversions des lésions:*** **utilise très peu de protéines et restore immédiatement les liaisons. ex. Photo-réactivation**

b. Réparation par excision de base (système BER): **permet l'élimination des bases anormales et la réparation du site.**

c. ***Réparation par excision de nucléotides (système NER):*** **permet la réparation de plusieurs nucléotides.**

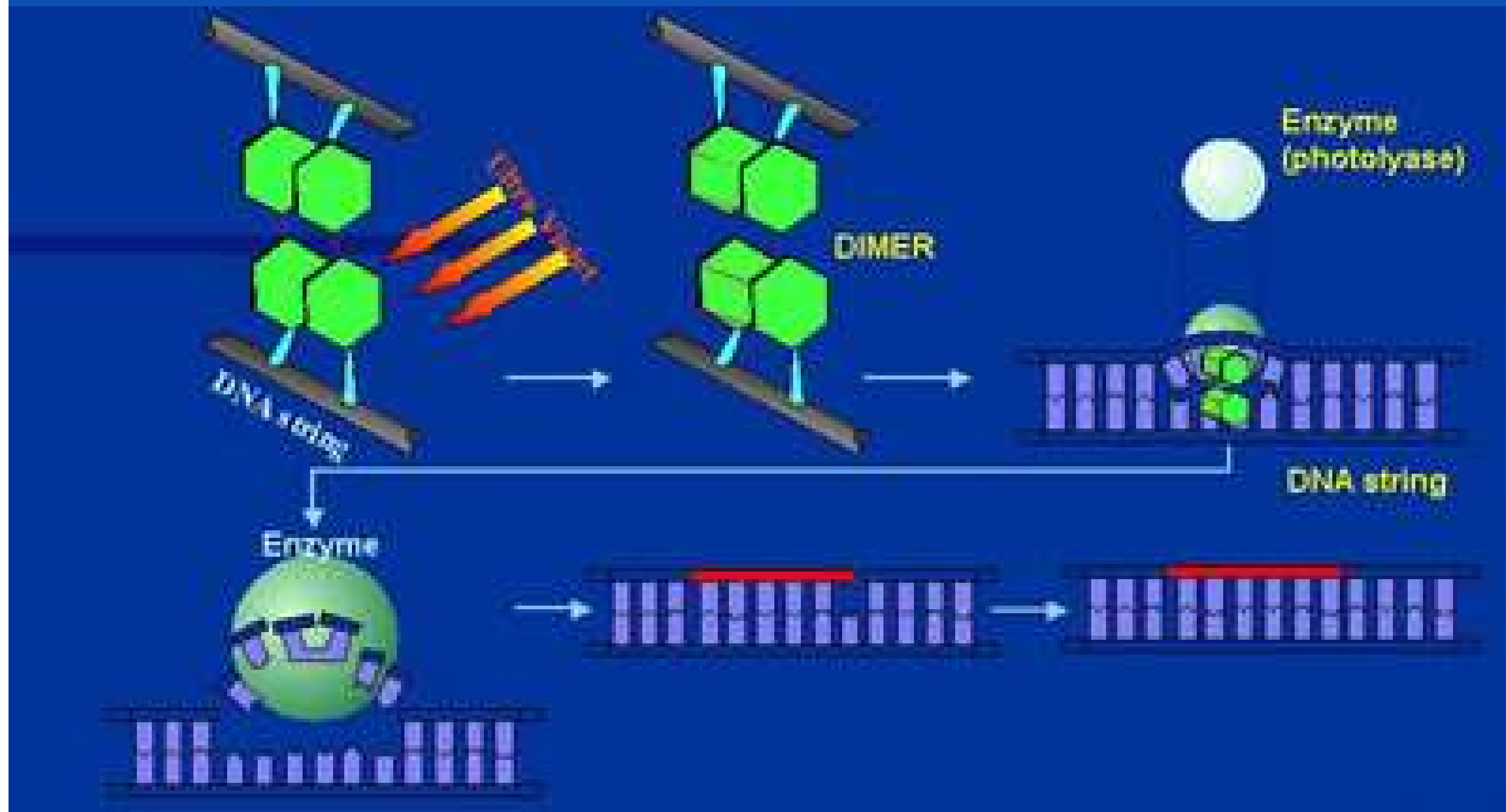
- **Besoin de:**

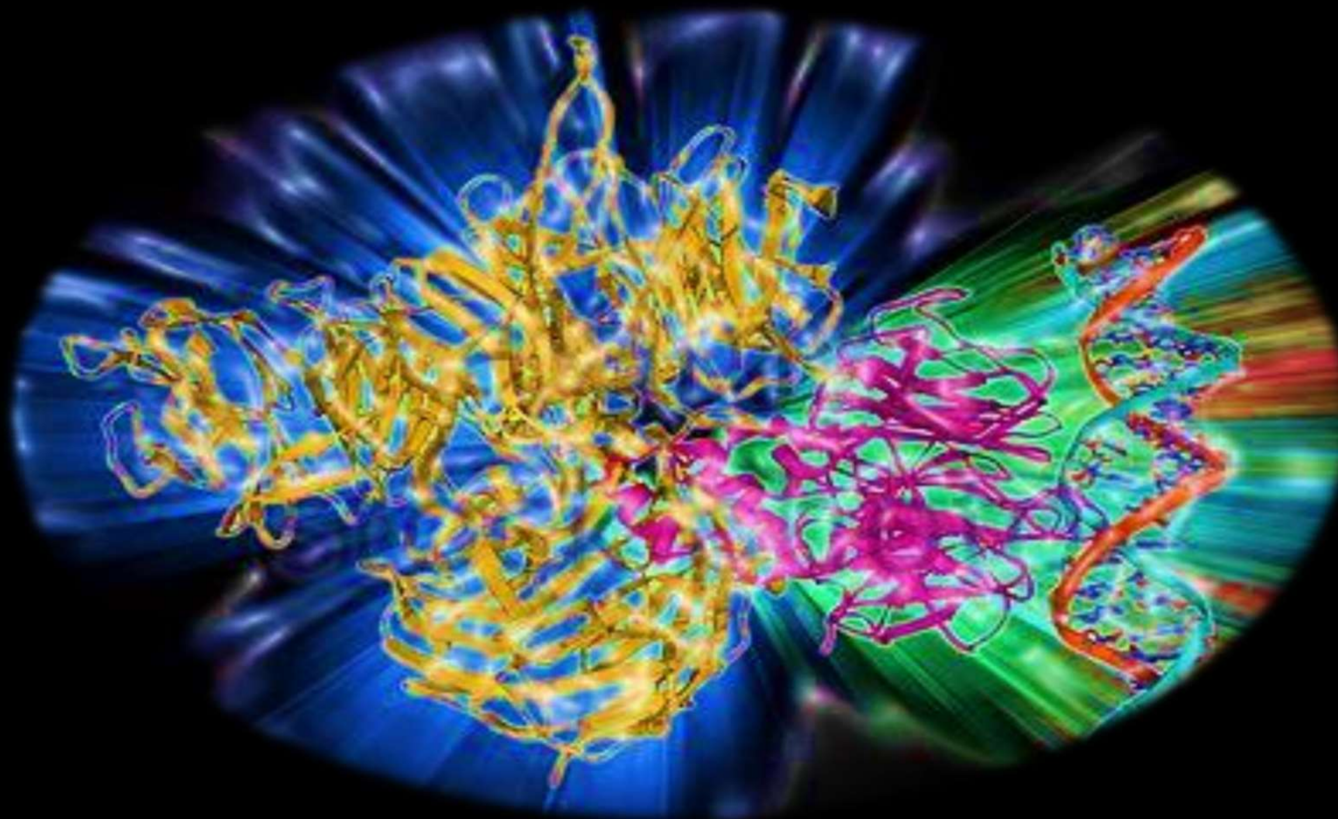
1.endonucléase 3'-5'

2.l'ADN-polymérase I

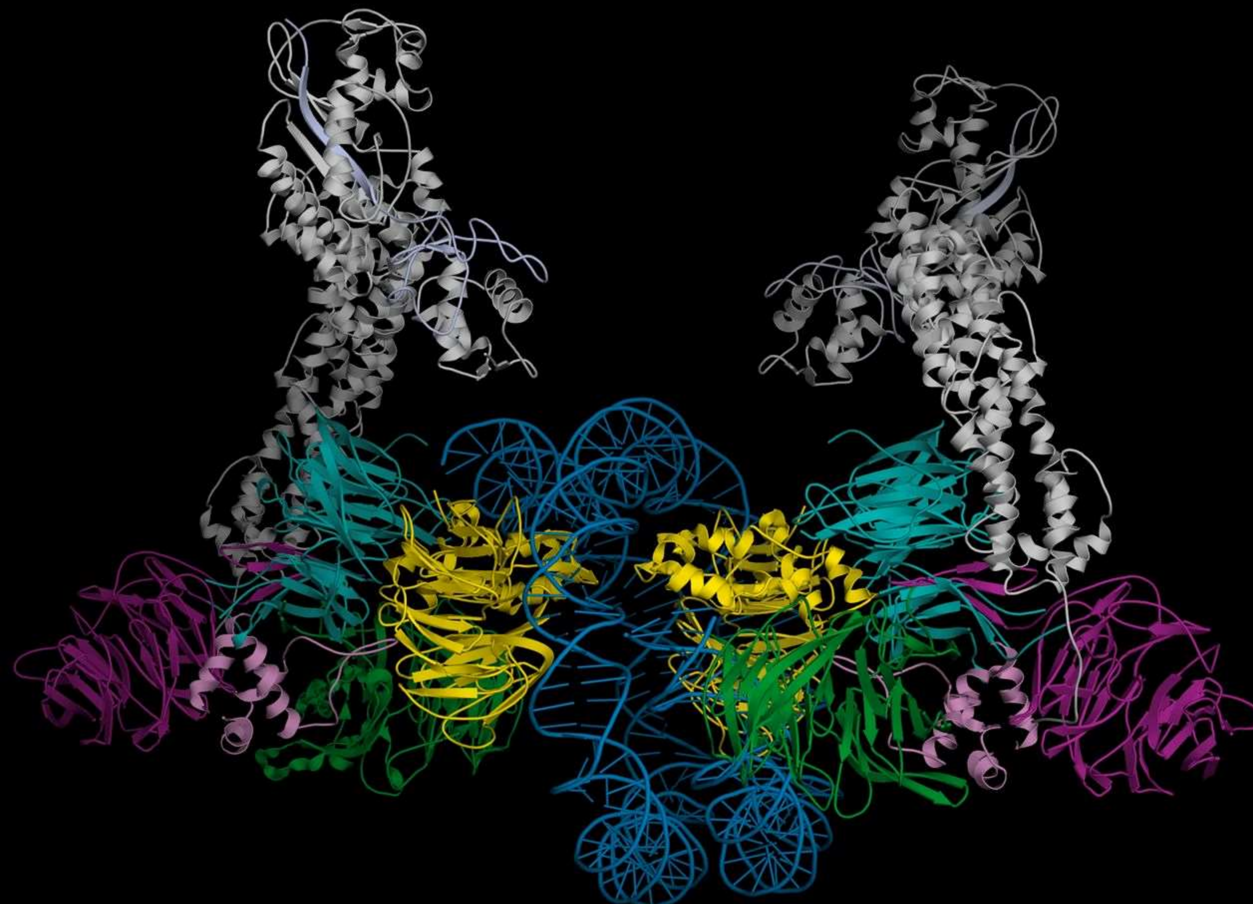
3. l'ADN-ligase

Photo-réactivation





UV-damaged DNA-binding protein and DNA.



UV-damaged DNA-binding protein and DNA.

Mécanismes de réparation liés à la période de réplication

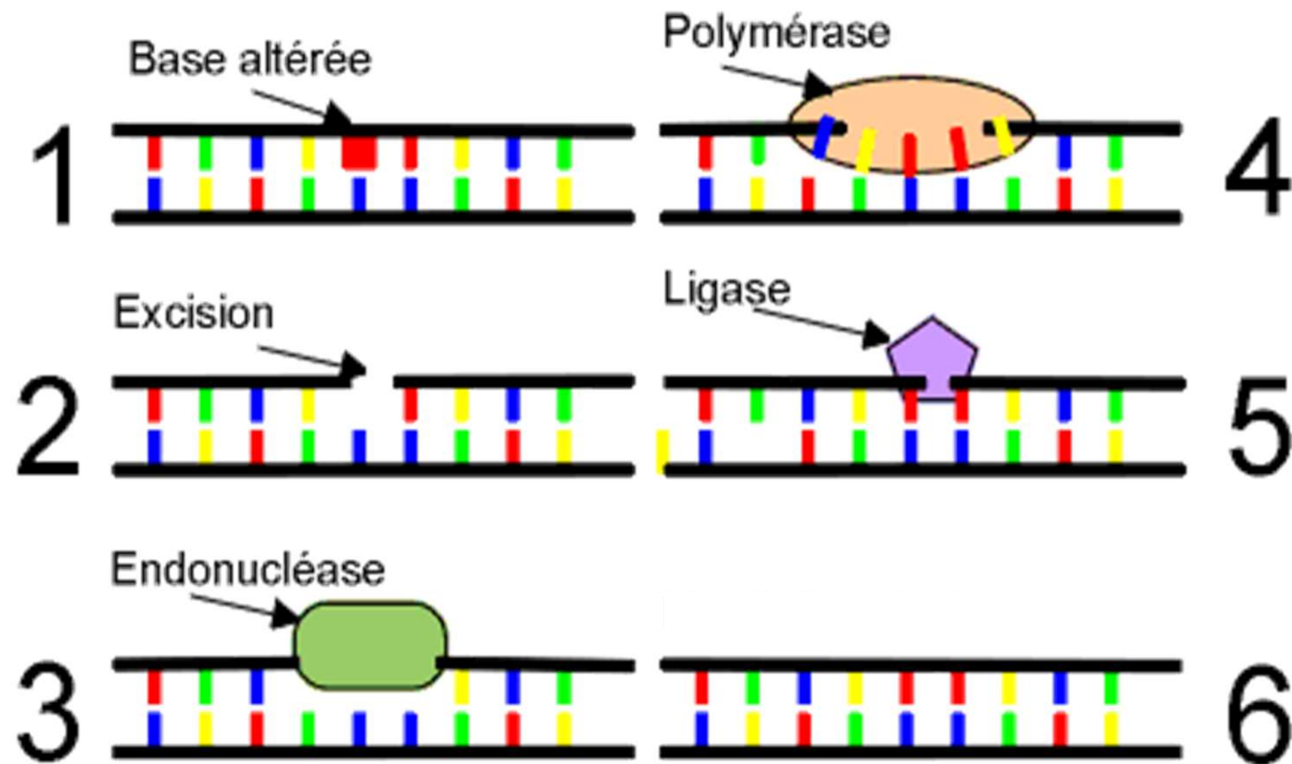
- a. **Réparation de mésappariements par le système Mut HLS:**
  - nécessite la reconnaissance ***du brin néosynthétisé*** de l'ADN grâce aux méthylations des adénines du brin anciennement synthétisé de l'ADN,
    - permettant la distinction entre les deux brins.
  - Une **endonucléase rompt le brin néosynthétisé** et la partie portant la lésion est **éliminée**.
  - Il y a ensuite action d'une **exonucléase et d'une Hélicase**,
  - puis de **l'ADN-polymérase I** et
  - finalement de la **ligase**.

-

3- Le système SOS

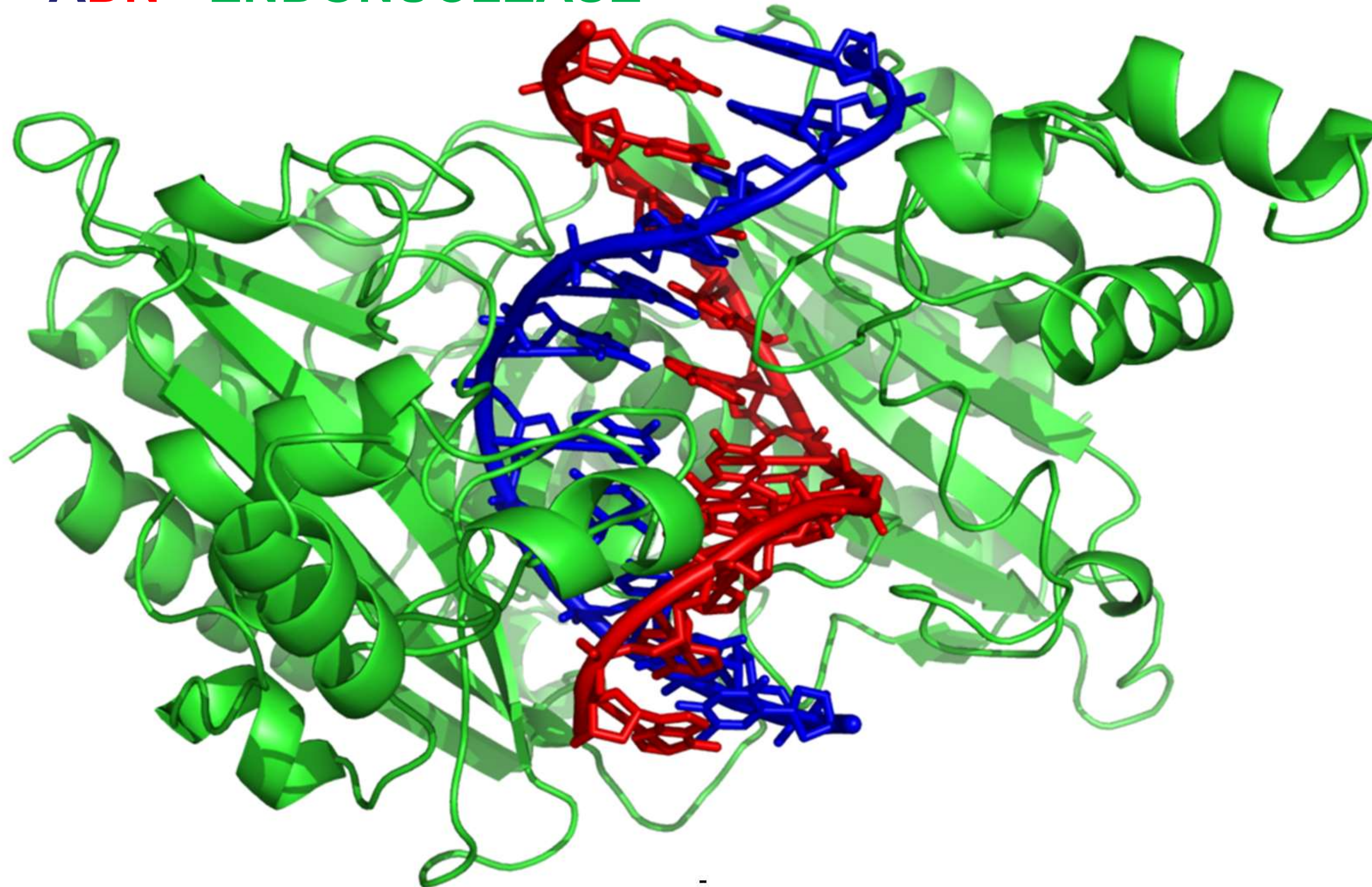
- **Le système SOS regroupe un ensemble de gènes (env. 30) qui est impliqué dans la réplication de l’ADN, dans la réparation de l’ADN et dans la division cellulaire et dont l’expression est contrôlée par une altération de l’ADN.**

Réparation de mésappariements par le système Mut HLS



https://www.youtube.com/watch?v=9bWjuwTiYXI

ADN - ENDONUCLEASE



Le système S.O.S.

- **synthèse de RecA est réprimée par LexA**
- **Si un besoin important de protéine RecA apparaît, la répression est levée grâce à une propriété particulière de la protéine RecA qui est capable de cliver son répresseur.**



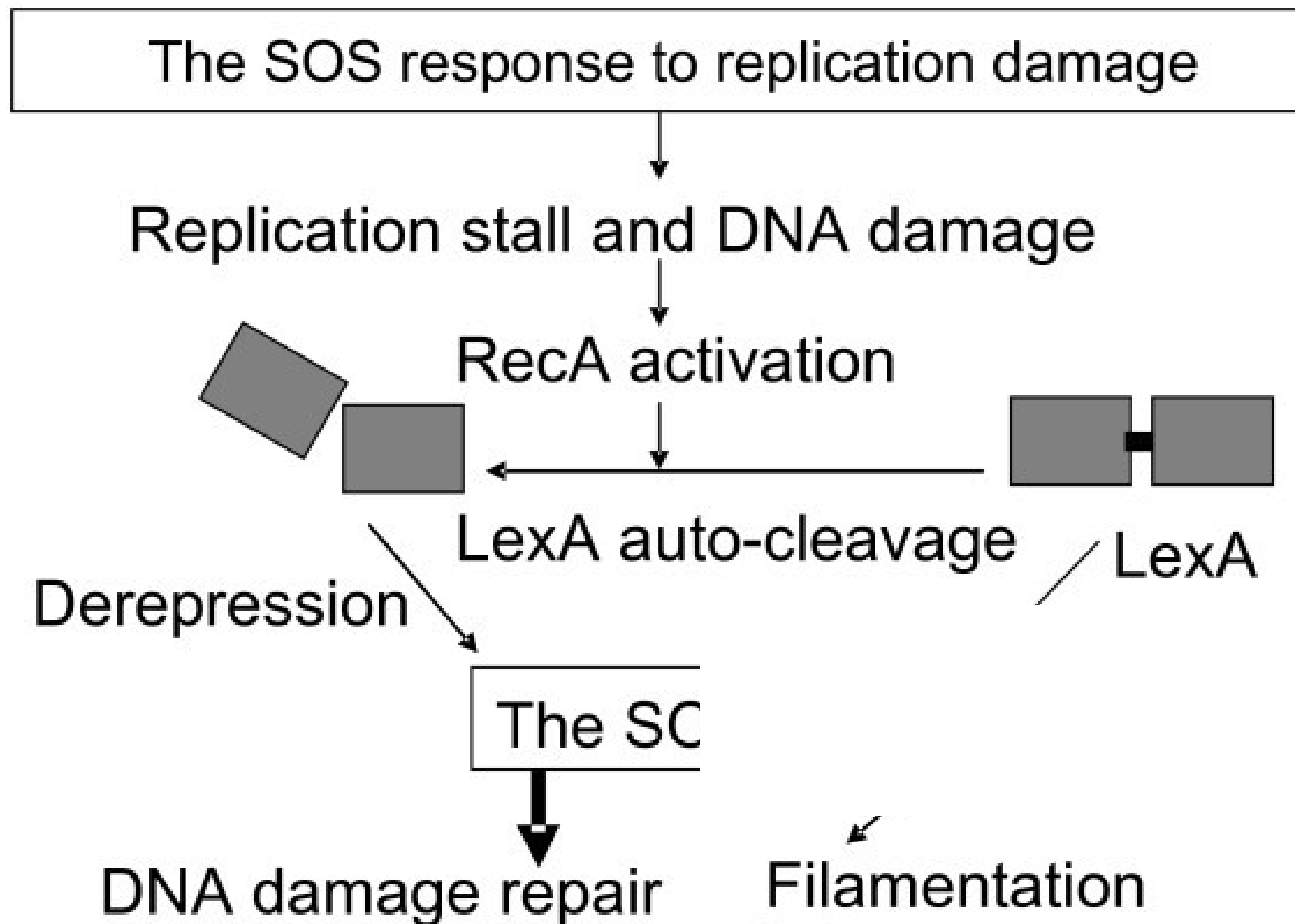
➢ Le système S.O.S.

- Le système S.O.S. a été décrit initialement chez les bactéries.

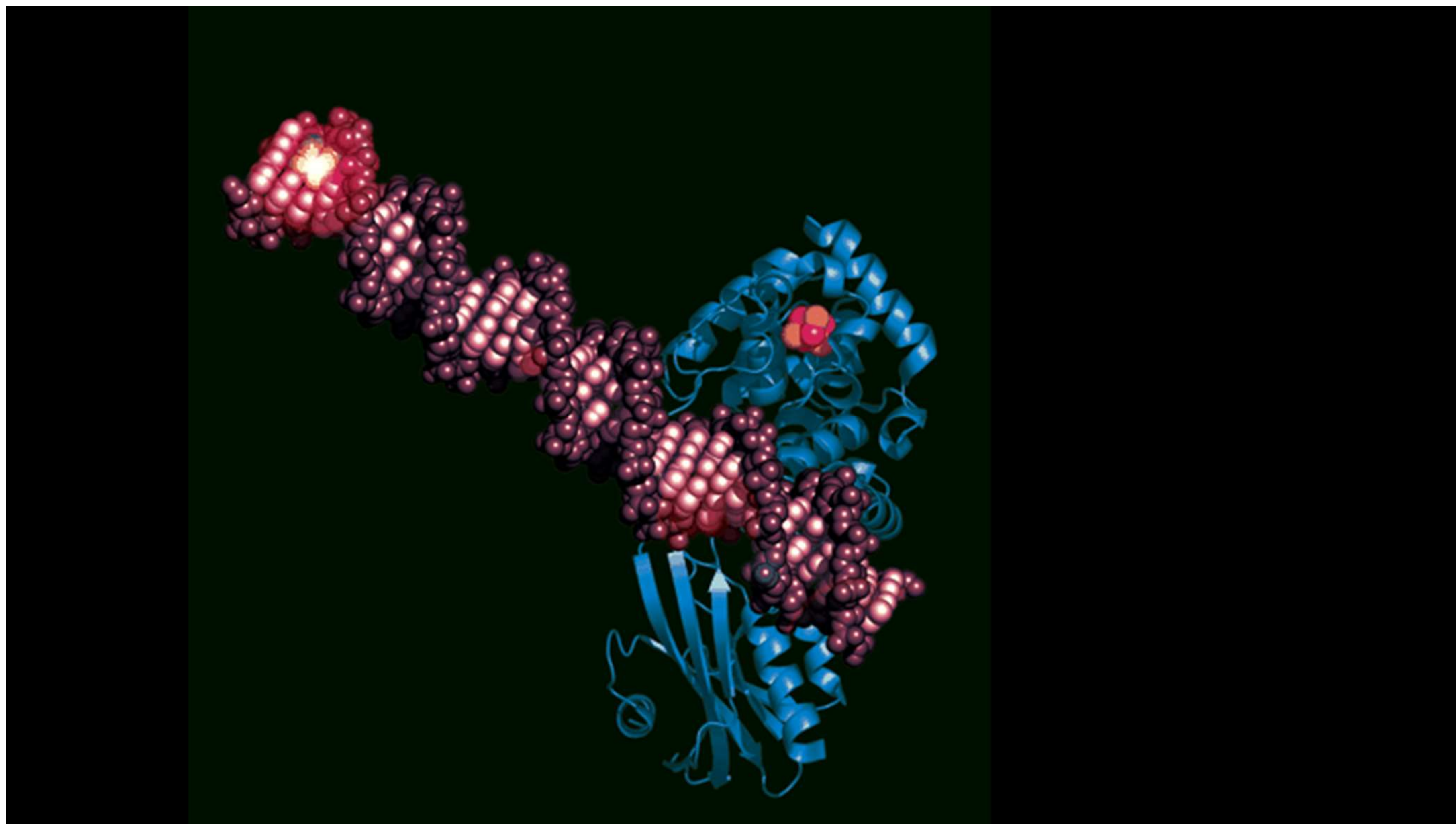
- Il concerne au moins une vingtaine de gènes dont les produits protéiques sont impliqués dans les mécanismes de réparation et de recombinaison.

- Ce système est remarquable parce qu'il est inductible, c'est-à-dire mis en oeuvre par l'agression physique ou chimique.

- La protéine de recombinaison RecA joue un rôle central dans un tel mécanisme de sauvegarde. La synthèse de cette protéine est normalement réprimée par une protéine appelée LexA ou répresseur.
- Si un besoin important de protéine RecA apparaît, la répression est levée grâce à une propriété particulière de la protéine RecA qui est capable de cliver son répresseur.



The SOS response to replication damage
Replication stall and DNA damage
RecA activation
LexA auto-cleavage
LexA
Derepression
The SC
DNA damage repair
Filamentation

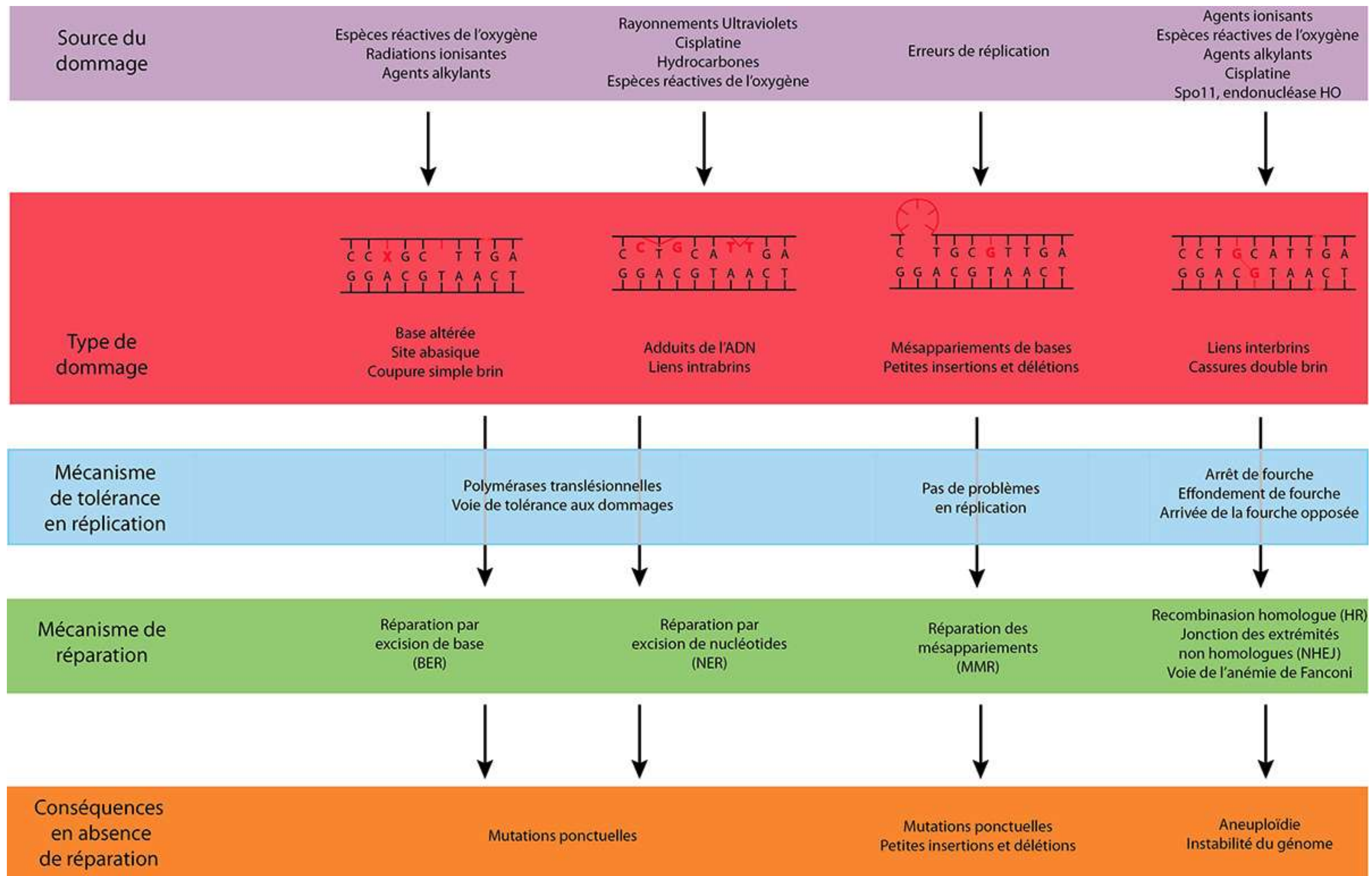


Les six grands systèmes de réparation

Ces stress induisent des modifications chimiques des bases nucléiques de l'ADN, des cassures simple brin de l'ADN, des pontages intrabrins et interbrins, des pontages ADN protéines et finalement des cassures double brin de l'ADN détruisant ainsi l'intégrité du chromosome. Pour répondre à ces stress, la cellule a développé des systèmes complexes lui permettant de sonder son ADN et, si nécessaire, de le réparer. Six grands systèmes de réparation existent au sein des cellules vivantes :

1. **La réparation directe de la lésion (photolyase pour les dimères de thymine, méthyltransférases pour m6G, m1A, m3C),**
2. **La réparation par excision de base ou base excision repair (BER),**
3. **La réparation par excision de nucléotides nucleotide excision repair (NER),**
4. **La réparation des mésappariements ou mismatch repair (MMR),**
5. **La réparation par jonction d'extrémités non homologues (NHEJ),**
6. **La réparation par recombinaison homologue.**

-



Source du dommage
Espèces réactives de l'oxygène
Radiations ionisantes
Agents alkylants
Rayonnements Ultraviolets
Cisplatine
Hydrocarbones
Espèces réactives de l'oxygène
Erreurs de réplication
Agents ionisants
Espèces réactives de l'oxygène
Agents alkylants
Cisplatine
Spo11, endonucléase HO
Type de dommage
Base altérée
Site abasique
Coupure simple brin
Adduits de l'ADN
Liens intrabrins
Mésappariements de bases
Petites insertions et délétions
Liens interbrins
Cassures double brin
Mécanisme de tolérance en réplication
Polymérases translésionnelles
Voie de tolérance aux dommages
Pas de problèmes en réplication
Arrêt de fourche
Effondement de fourche
Arrivée de la fourche opposée
Mécanisme de réparation
Réparation par excision de base (BER)
Réparation par excision de nucléotides (NER)
Réparation des mésappariements (MMR)
Recombinasion homologue (HR)
Jonction des extrémités non homologues (NHEJ)
Voie de l'anémie de Fanconi
Conséquences en absence de réparation
Mutations ponctuelles
Mutations ponctuelles
Petites insertions et délétions
Aneuploïdie
Instabilité du génome

Diversité des dommages à l'ADN et des mécanismes de tolérance et de réparation correspondants

Les différentes lésions de l'ADN sont causées par une grande variété d'agents. Si elles sont toujours présentes au cours de la réplication, des mécanismes de tolérance peuvent être mis en place. Pour chaque type de lésion, des mécanismes spécifiques de réparation existent. Si ces mécanismes ne sont pas mis en place, les conséquences cellulaires sont variables selon le type de dommage. D'après : Houtgraaf et al, 2006 ; Branzei & Foiani, 2010.

Réponses aux dommages nucléotidiques et simple brin

La première preuve de l'existence de mécanismes de réparation de l'ADN a été découverte en 1949, en parallèle par Albert Kelner et Renato Dulbecco. Ceux-ci ont observé que des cultures de bactéries Streptomyces griseus ou de bactériophages (virus infectant des bactéries) présentaient une meilleure survie après exposition aux UV si elles étaient exposées à la lumière du jour, juste après l'exposition aux UV (Dulbecco, 1949 ; Kelner, 1949). Il fut montré par la suite que ce phénomène est lié à la résolution des dimères de pyrimidine créés par les UV dans l'ADN, avec l'intervention d'une enzyme de photoréactivation qui utilise la lumière comme source d'énergie. Ainsi, les mécanismes de réparation de l'ADN sont spécialisés par type de dommage.

- **Réponses aux dommages nucléotidiques et simple brin**

- **Deux voies principales conservées permettent la réparation des dommages simple brin chez les Eucaryotes**
- . La voie de réparation par excision de base passe par l'élimination du seul nucléotide endommagé. Des glycosylases spécialisées reconnaissent et éliminent la base endommagée, puis le site apurique ou apyrimidique résultant est clivé par l'AP endonucléase (Apurinic/apyrimidinic endonuclease). Un ou plusieurs nouveaux nucléotides sont alors ajoutés, puis l'ADN est ligaturé et restauré dans son état initial.

- La voie de réparation par excision de nucléotides reconnaît les dommages qui déforment l'ADN et élimine un fragment de 25 à 30 nucléotides du brin d'ADN contenant la lésion.
  - Les polymérases réplicatives et certains facteurs associés sont alors nécessaires pour re-synthétiser le fragment éliminé.
  - Les personnes présentant des mutations dans les protéines de cette voie sont atteintes de Xeroderma pigmentosum (maladie plus connue sous le nom « enfants de la lune ») : elles sont extrêmement sensibles aux UV et développent des cancers en réponse à l'exposition au soleil car leurs cellules ne réparent pas correctement les dommages à l'ADN dus aux UV solaires.
  - Ceci montre l'importance des protéines de cette voie dans la réparation des lésions induites par les UV.

Réponse aux lésions réplicatives

Lors de la réplication, l’ensemble du génome doit être recopié fidèlement, sans aucune erreur.

Bien que les polymérases réplicatives soient extrêmement fidèles, notamment grâce à un mécanisme de vérification des erreurs, elles laissent tout de même quelques erreurs.

Ainsi, chez la levure Saccharomyces cerevisiae, la polymérase réplicative delta a une fréquence de mésappariements de l’ordre de 10-8, soit une erreur tous les 100 millions de bases pour un génome d’environ 12 millions de bases. De plus, les régions contenant de petites répétitions de type microsatellites sont sources de petites insertions et délétions, augmentant la fréquence d’erreurs de la polymérase delta vers 10-3.

- **Réponse aux lésions réplicatives**

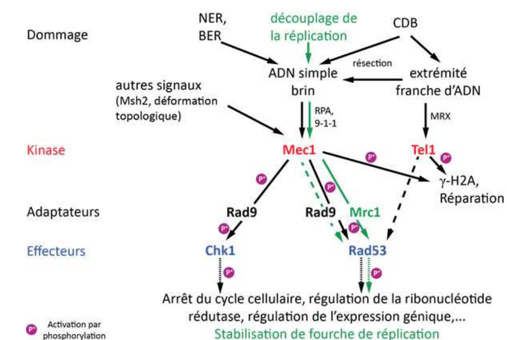
- Ces mésappariements et insertions/délétions créent des déformations de l'ADN, qui sont reconnues par un hétérodimère de protéines spécialisé.
- L'erreur peut alors être excisée grâce à la reconnaissance du brin originel, et la séquence ainsi éliminée est re-synthétisée grâce à l'ADN polymérase delta et la ligase I.
- Ainsi, la polymérase delta intervient dans la correction de ses propres erreurs. Il est intéressant de noter que cette voie de réparation des mésappariements agit de manière couplée avec la réplication, ce qui lui permet de différencier le brin naissant du brin originel.

- D'autre part, si les erreurs non réparées des ADN polymérases sont invisibles pour celles-ci lors de la réplication, les dommages simple et double brin sont, quant à eux, susceptibles d'arrêter les fourches de réplication, ce qui serait délétère pour la cellule.
- La voie de tolérance aux dommages, décrite par la suite, permet aux fourches de réplication de dépasser ces dommages sans les réparer

- **Réponse aux cassures double brin**
- Les cassures double brin (CDB) sont des dommages à fort risque pour la cellule, puisqu'elles peuvent entraîner la perte d'un fragment de chromosome.
- Deux mécanismes principaux peuvent réparer ces cassures, via deux activités différentes (
- La réparation par jonction des extrémités non-homologues (JENH) ligature directement les deux extrémités de la cassure, alors que la recombinaison homologue (RH) utilise une séquence homologue pour recopier la région perdue lors de la cassure. Cette méthode de réparation par RH sera décrite plus loin, de manière plus détaillée.
- Bien que très précis pour des cassures propres, la jonction des extrémités non-homologues est source d'erreurs si les extrémités doivent être traitées. Au contraire, la recombinaison homologue est sans erreur si elle utilise la bonne séquence homologue. Ainsi, on observe que l'activité de la jonction des extrémités non-homologues est limitée à la phase G1 des cellules haploïdes chez *S. cerevisiae*, lorsque aucune séquence homologue n'est disponible.
- D'autres voies alternatives de réparation des CDBs existent, notamment une voie de jonction des extrémités médiée par la micro-homologie, qui est cependant source d'erreurs.

Les voies de signalisation des dommages

La reconnaissance d'un dommage à l'ADN met en place, en parallèle de la réparation, une voie de signalisation qui optimise les conditions cellulaires pour la réparation du dommage (Fig. 2). Chez *S. cerevisiae*, elle implique l'activation de deux protéines kinases centrales, Tel1 (ATM chez les Mammifères) et Mec1 (ATR chez les Mammifères). Le point de contrôle Tel1 reconnaît de préférence les extrémités franches des cassures double brin. Par contre, le point de contrôle Mec1 est activé préférentiellement par l'ADN simple brin. Rappelons, qu'excepté au brin discontinu des fourches de réplication et aux télomères (voir l'article sur les télomères), l'ADN simple brin n'est pas une structure ordinaire dans la cellule. Il est souvent un intermédiaire pour la réparation des dommages, notamment par les voies d'excision de base et de nucléotides.



Les principaux constituants de la voie de signalisation en réponse à un dommage à l'ADN chez *S. cerevisiae* sont représentés, ainsi que les évènements de phosphorylation. L'apparition d'un dommage à l'ADN crée des structures qui permettent l'activation des points de contrôle cellulaires Mec1 et Tel1. Ceux-ci activent la transduction du signal par une cascade de phosphorylations. En vert : la voie de signalisation activée en cas de dommage réplicatif. Les tirets indiquent une voie secondaire.
D'après : Alcasabas et al, 2001; Harrison & Haber, 2006.

-

Dommage

NER,
BER

découplage de
la réplication

CDB

résection

ADN simple
brin

extrémité
franche d'ADN

autres signaux
(Msh2, déformation
topologique)

RPA,
9-1-1

MRX

Kinase

Mec1

Tel1

γ-H2A,
Réparation

Adaptateurs

Rad9

Rad9

Mrc1

Effecteurs

Chk1

Rad53

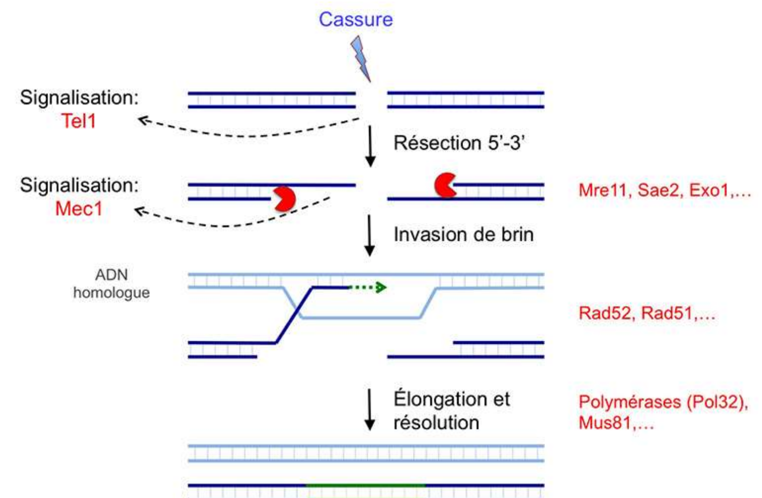
Arrêt du cycle cellulaire, régulation de la ribonucléotide
rédutase, régulation de l'expression génique,...
Stabilisation de fourche de réplication

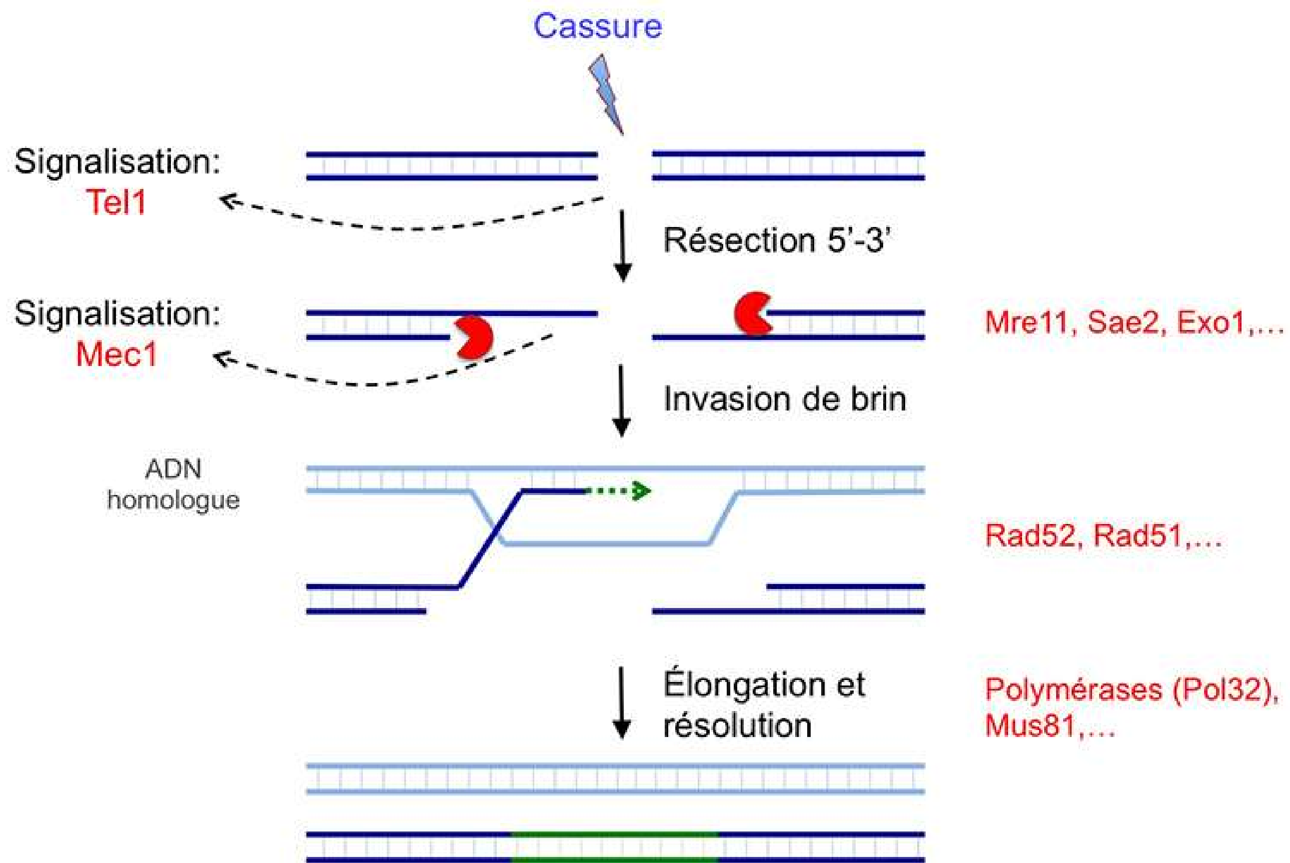
P* Activation par
phosphorylation

La recombinaison homologue

Parmi l'ensemble des lésions pouvant survenir, les cassures double brin sont des dommages très risqués pour les cellules. Un des mécanismes majeurs de réparation de ces cassures est la voie de la recombinaison homologue (Fig. 3). Cette voie, très conservée entre les différents organismes, utilise une séquence homologue à la région de la cassure pour permettre une réparation fidèle des cassures double brin.

Réponse coordonnée aux cassures double brin et voies de réparation
Cette figure présente quelques molécules impliquées dans la réponse coordonnée aux cassures double brin par la voie de la recombinaison homologue. Pour une présentation plus détaillée des mécanismes mis en jeu, voir ci-dessous. D'après : Finn et al, 2012 ; Krogh & Symington, 2004 ; San Filippo et al, 2008 ; Symington & Gautier, 2011.




Cassure
Signalisation:
Tel1
Résection 5'-3'
Signalisation:
Mec1
Mre11, Sae2, Exo1,...
Invasion de brin
ADN
homologue
Rad52, Rad51,...
Élongation et
résolution
Polymérases (Pol32),
Mus81,...

Réponse coordonnée aux cassures double brin et voies de réparation : détail

Une cassure double brin d'ADN est reconnue par le complexe MRX (A), ce qui permet l'activation de la voie de signalisation et, soit la réparation par jonction des extrémités non homologues (NHEJ) (B), soit l'initiation de la résection. Celle-ci permet alors, soit la réparation par hybridation simple brin (SSA) (C), soit la formation d'un filament Rad51-ADN simple brin. En l'absence d'une seconde extrémité, la réparation initie la réplication induite par les cassures (BIR) (D). En présence de la seconde extrémité, après synthèse d'ADN, la boucle en D formée par l'invasion d'une région homologue par le filament Rad51-ADN simple brin peut être résolue soit par déplacement de brin-hybridation de brin (SDSA) (E), soit par la voie de réparation des cassures double brin (DSBR) (F). D'après : Finn et al, 2012 ; Krogh & Symington, 2004 ; San Filippo et al, 2008 ; Symington & Gautier, 2011.

CDB : cassure double brin

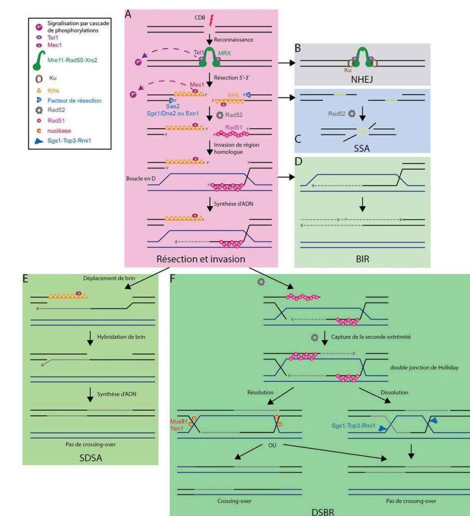
NHEJ : jonction des extrémités non homologues (*Non-homologous End Joining*)

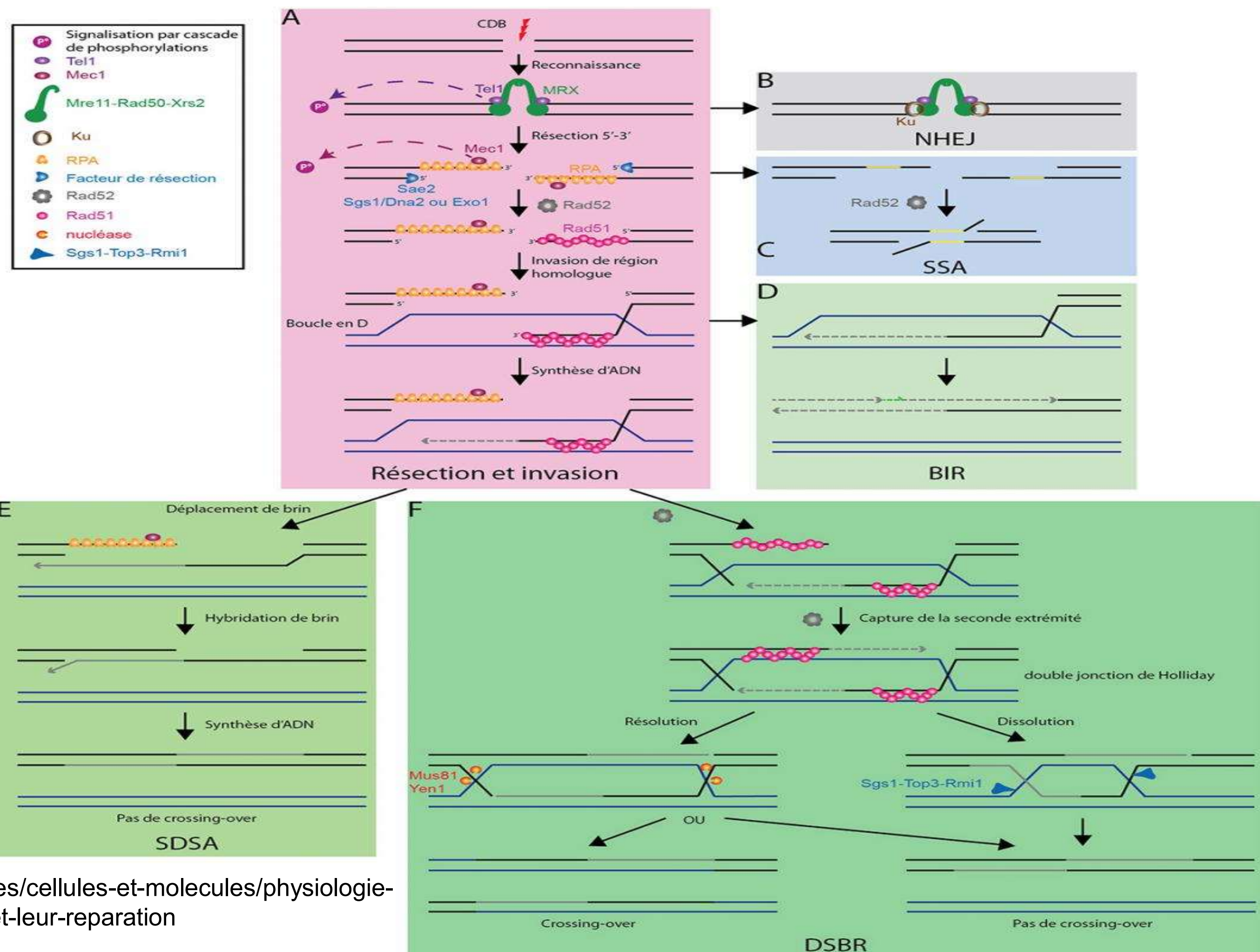
SSA : hybridation de simple brin (*Single Strand Annealing*)

BIR : réplication induite par les cassures (*Break Induced Replication*)

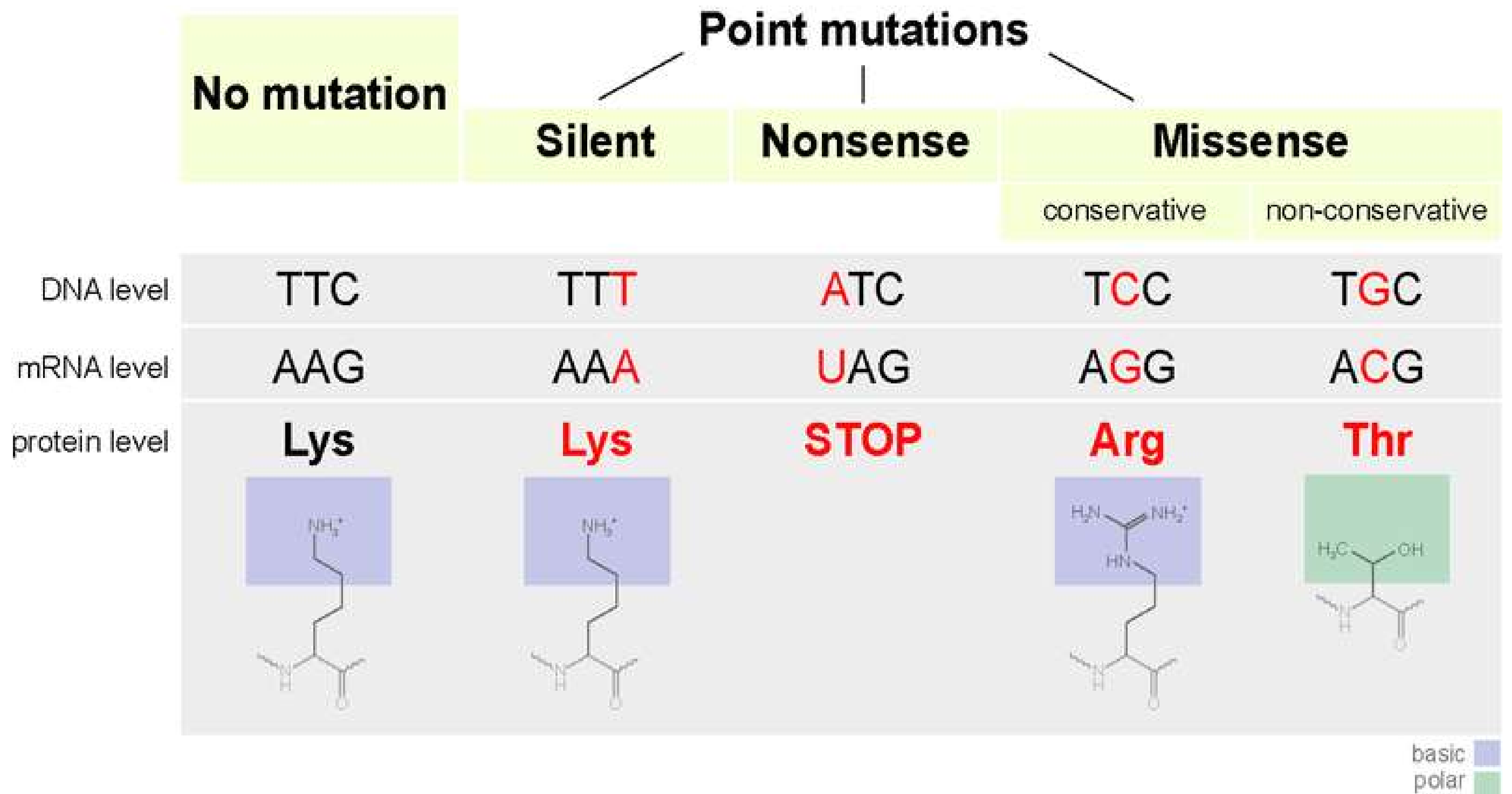
SDSA : déplacement de brin-hybridation de brin (*Synthesis-Dependant Strand Annealing*)

DSBR : réparation des cassures double brin (Double-Strand Breaks Repair)





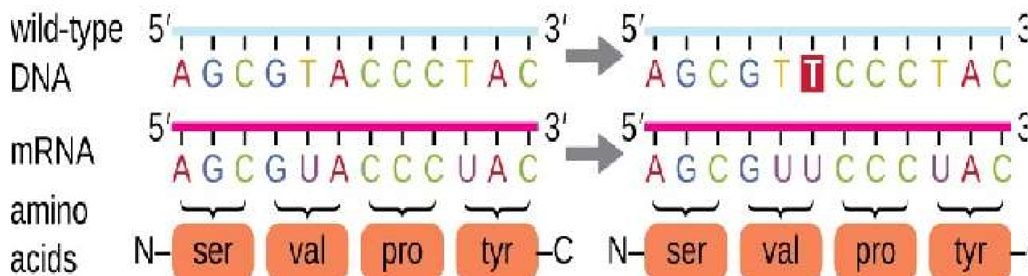
https://planet-vie.ens.fr/thematiques/cellules-et-molecules/physiologie-cellulaire/les-dommages-a-l-adn-et-leur-reparation



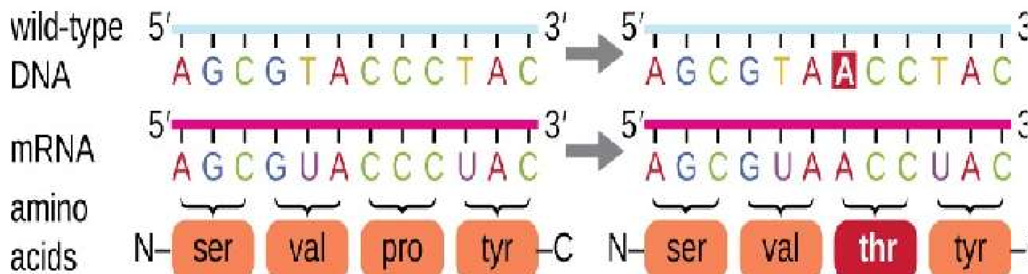
Point mutations
No mutation
Silent
Nonsense
Missense
conservative
non-conservative
DNA level
TTC
TTT
ATC
TCC
TGC
mRNA level
AAG
AAA
UAG
AGG
ACG
protein level
Lys
Lys
STOP
Arg
Thr
basic
polar

point mutation: substitution of a single base

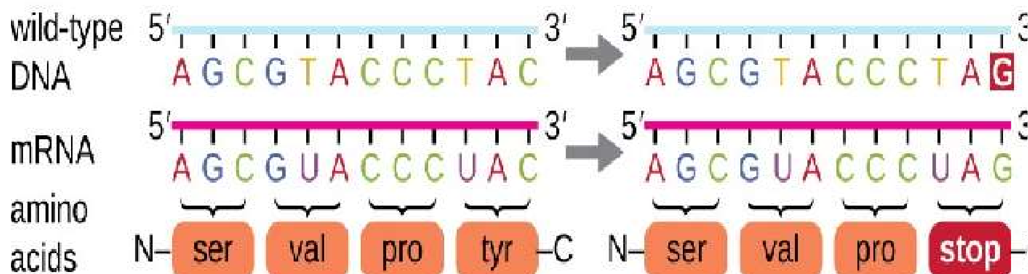
silent: has no effect on the protein sequence



missense: results in an amino acid substitution

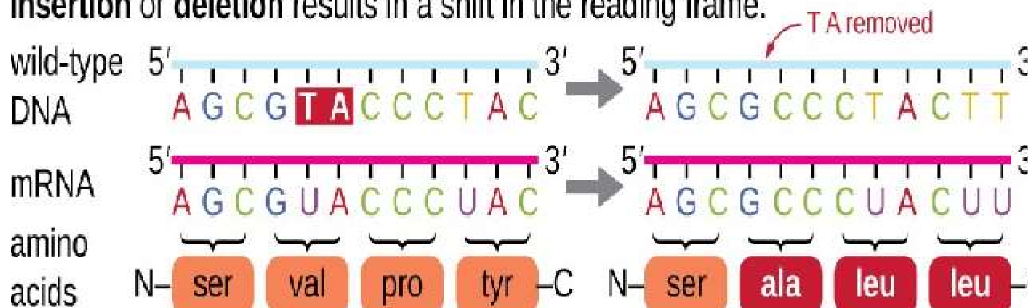


nonsense: substitutes a stop codon for an amino acid

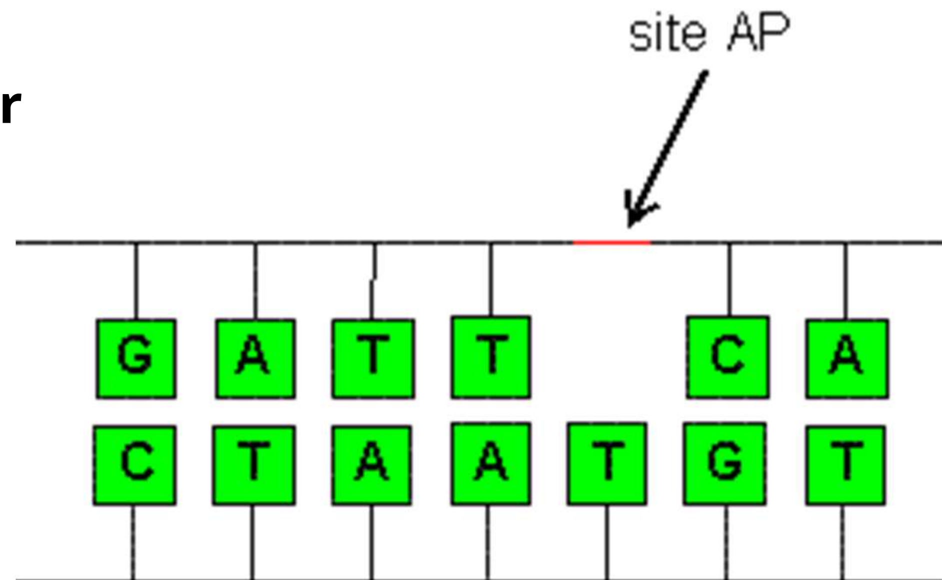


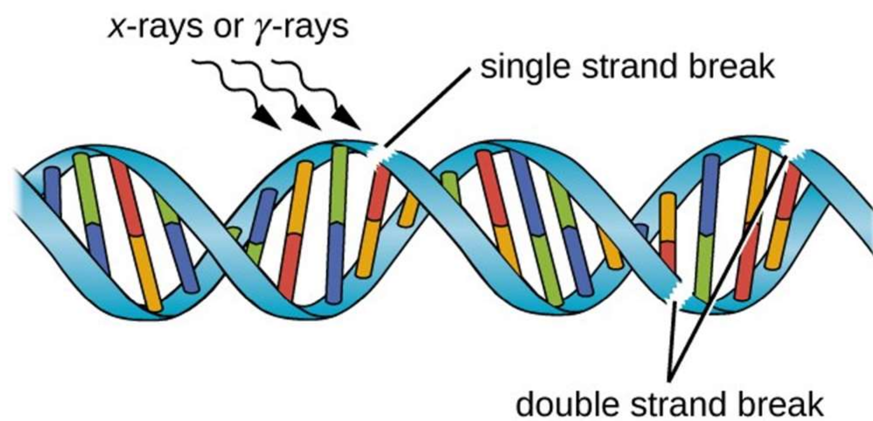
frameshift mutation: insertion or deletion of one or more bases

Insertion or **deletion** results in a shift in the reading frame.

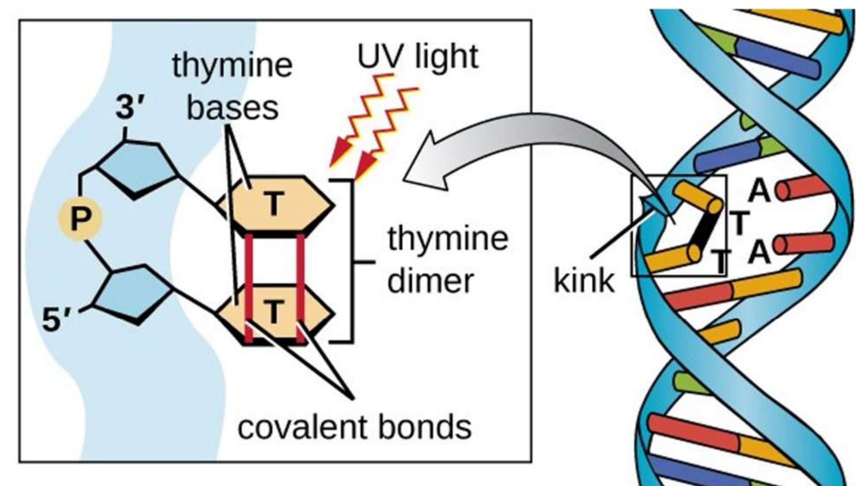


Abasic Sites. Apurinic and Apyrimidimic (AP) sites occur due to unstable hydrolysis.



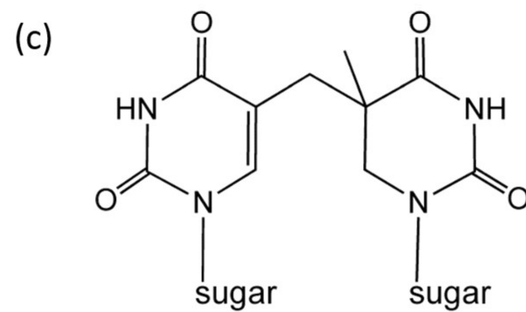


(a) Ionizing radiation

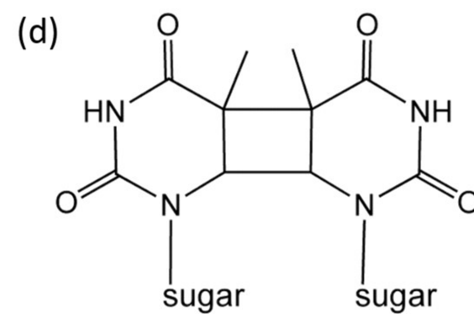


(b) Non-ionizing radiation

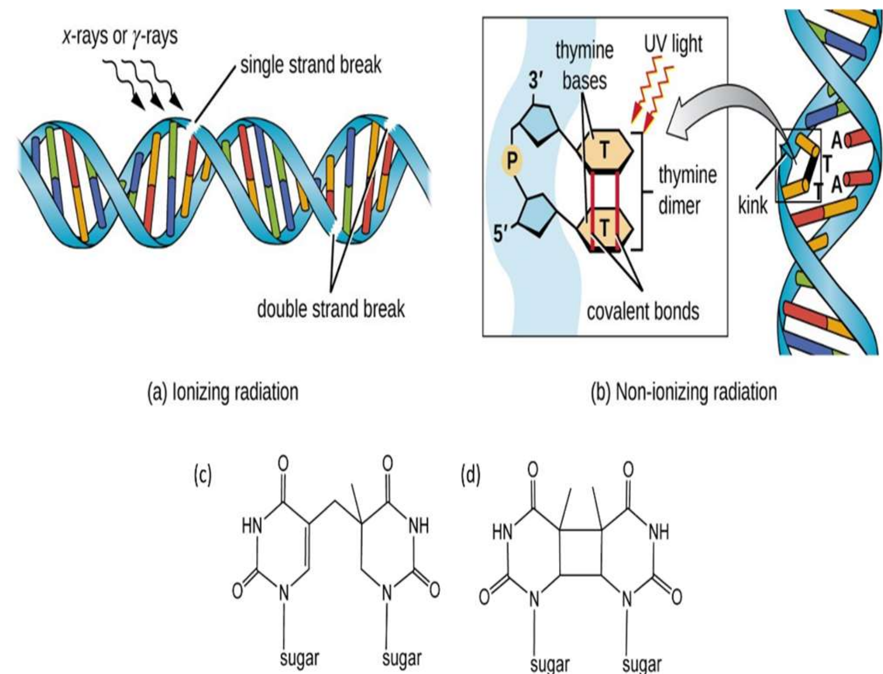
(c)



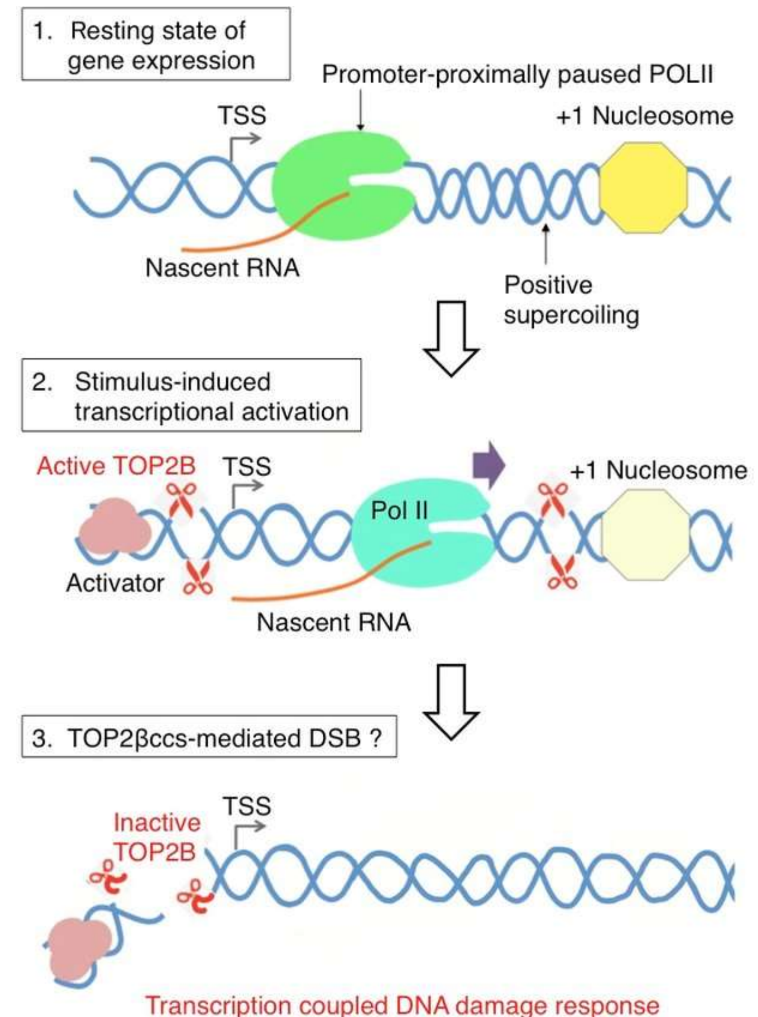
(d)



Double-Stranded DNA breaks and Thymine Dimer Formation (a) Ionizing radiation, such as X-rays and γ-rays contain enough energy to cause single and double-stranded breaks in the DNA backbone. (b) Energy from non-ionizing radiation such as UV-light is directly absorbed by the DNA causing thymine residues that are adjacent within a single DNA strand to become crosslinked. (c) a 6,4-dimer that forms a single covalent bond and (d) thymine-thymine cyclobutane dimer that forms a two covalent bonds between the thymine residues.



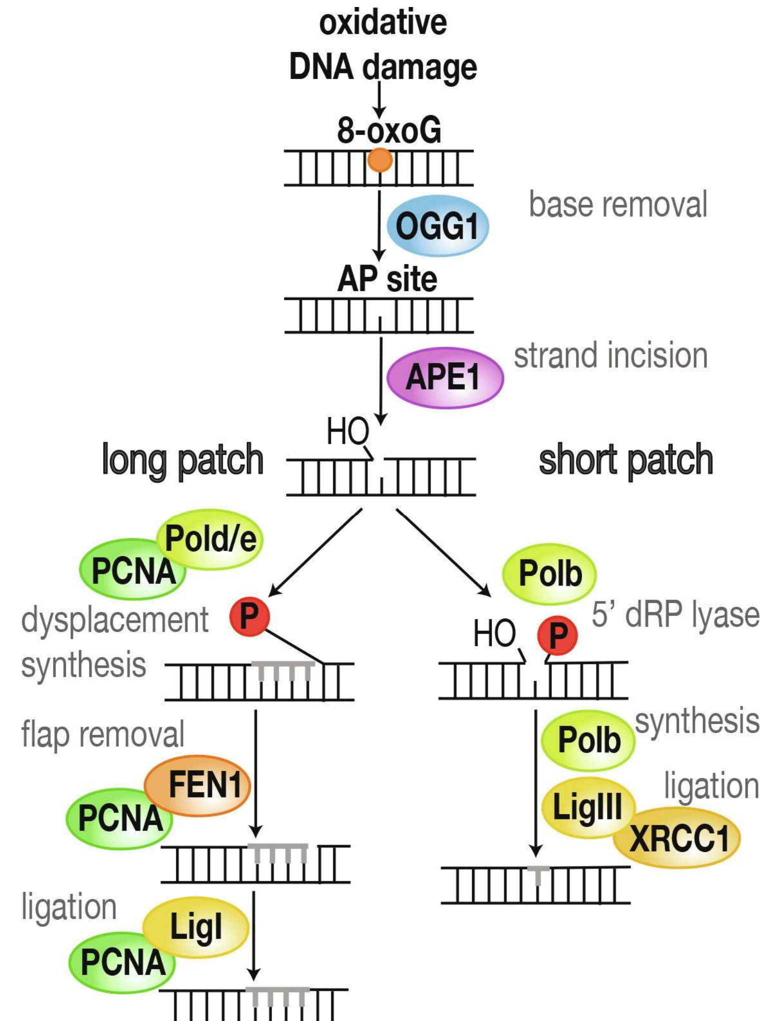
Model of Topoisomerase IIB (TOP2B)-mediated DNA Double Strand Breaks During Transcription. (***Top Diagram***) **in the uninduced state of transcription, Pol II is paused between +25 and +100 from the transcription start site. The pausing is attributed to different elements including pausing-stabilizing transcription factors, the +1 nucleosome, and DNA structure and torsion. Positive supercoiling ahead of Pol II may require the function of TOP2B.** (***Middle Diagram***) **Transcription activation induced by various stimuli activates TOP2B to resolve DNA torsion in the promoter and gene body.** (***Bottom Diagram***) **In this process, double strand breaks could be formed from abortive catalysis of TOP2B, which occurs frequently in some genes. This may be responsible for DNA damage response signaling that has been observed in a number of stimulus-inducible genes in humans.**



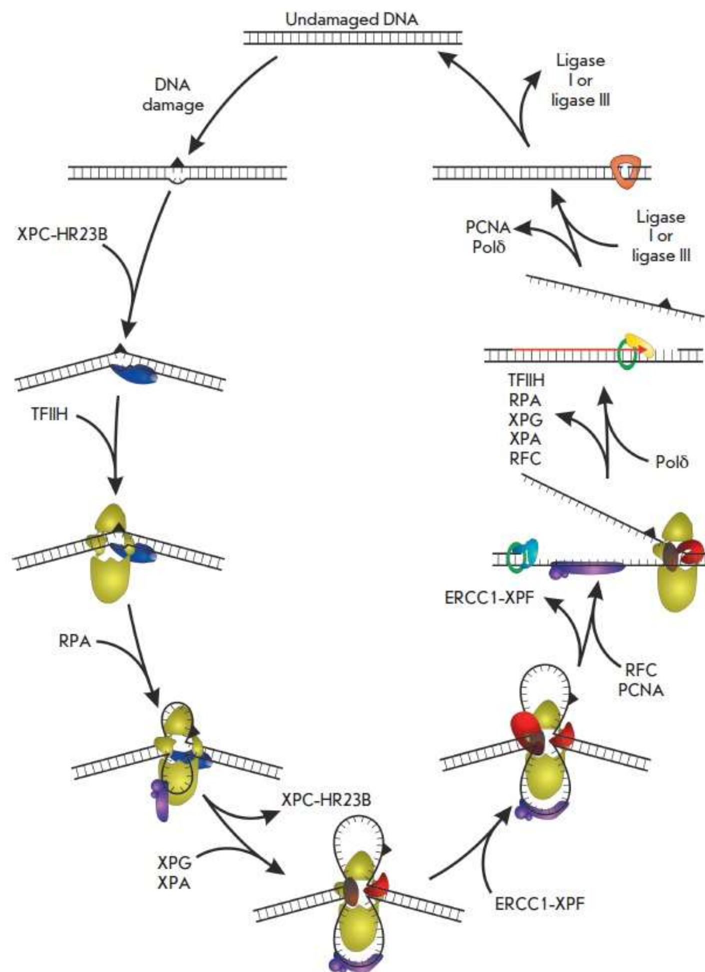
Molecular function	*Thermus thermophilus*	*Escherichia coli*	*Saccharomyces cerevisiae*	*Homo sapiens*
Mismatch recognition	MutS	MutS	MutS α (MSH2/MSH6) MutS β (MSH2/MSH3)	MutS α (MSH2/MSH6) MutS β (MSH2/MSH3)
Strand incision	β-Clamp [*1]	—	PCNA	PCNA
	clamp-loader [*1]		RFC	RFC
	MutL		MutL α (MLH1/PMS1) MutL γ [*2] (MLH1/MLH3)	MutL α (MLH1/PMS2) MutL γ [*2] (MLH1/MLH3)
Strand incision	—	MutH	—	—
Match making	MutL	MutL	MutL α (MLH1/PMS1) MutL β (MLH1/MLH2) MutL γ (MLH1/MLH3)	MutL α (MLH1/PMS2) MutL β (MLH1/PMS1) MutL γ (MLH1/MLH3)
Strand excision (single-stranded DNA-binding)	SSB	SSB	RPA	RPA
Strand excision (exonuclease)	RecJ	RecJ	EXO1 [*3]	EXO1 [*3]
	ExoI	ExoI		
		ExoVII		
		ExoX		
Strand excision (helicase)	UvrD	UvrD	—	—
Repair synthesis	DNA polymerase III	DNA polymerase III	DNA polymerase δ	DNA polymerase δ

[*1] The involvement of bacterial clamp and clamp-loader in the strand incision reaction has not yet been confirmed. [*2] It is demonstrated that the endonuclease motif in MLH3 is responsible for in vivo MMR; however, the endonuclease activity of MutL γ has not yet been confirmed biochemically. [*3] In yeast and human, EXO1 has the 5'-flap endonuclease activity in addition to 5' - 3' exonuclease activity.

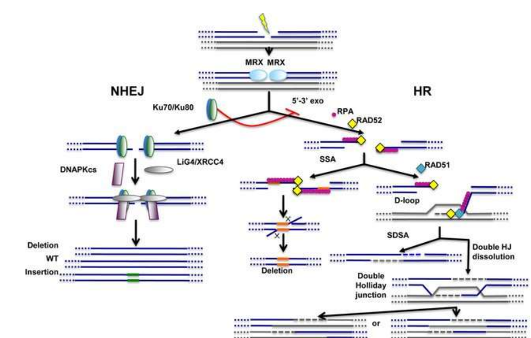
Base Excision Repair. Base excision repair (BER) of 8-oxo-7,8-dihydroguanine (8-oxoG). Oxidative DNA damage is repaired via several repair intermediates by base excision repair (BER). Through removal of the oxidized base, a reactive apurinic site (AP site) is formed. Incision of the strand creates a single strand break, and the damaged site is then repaired through either short or long patch BER



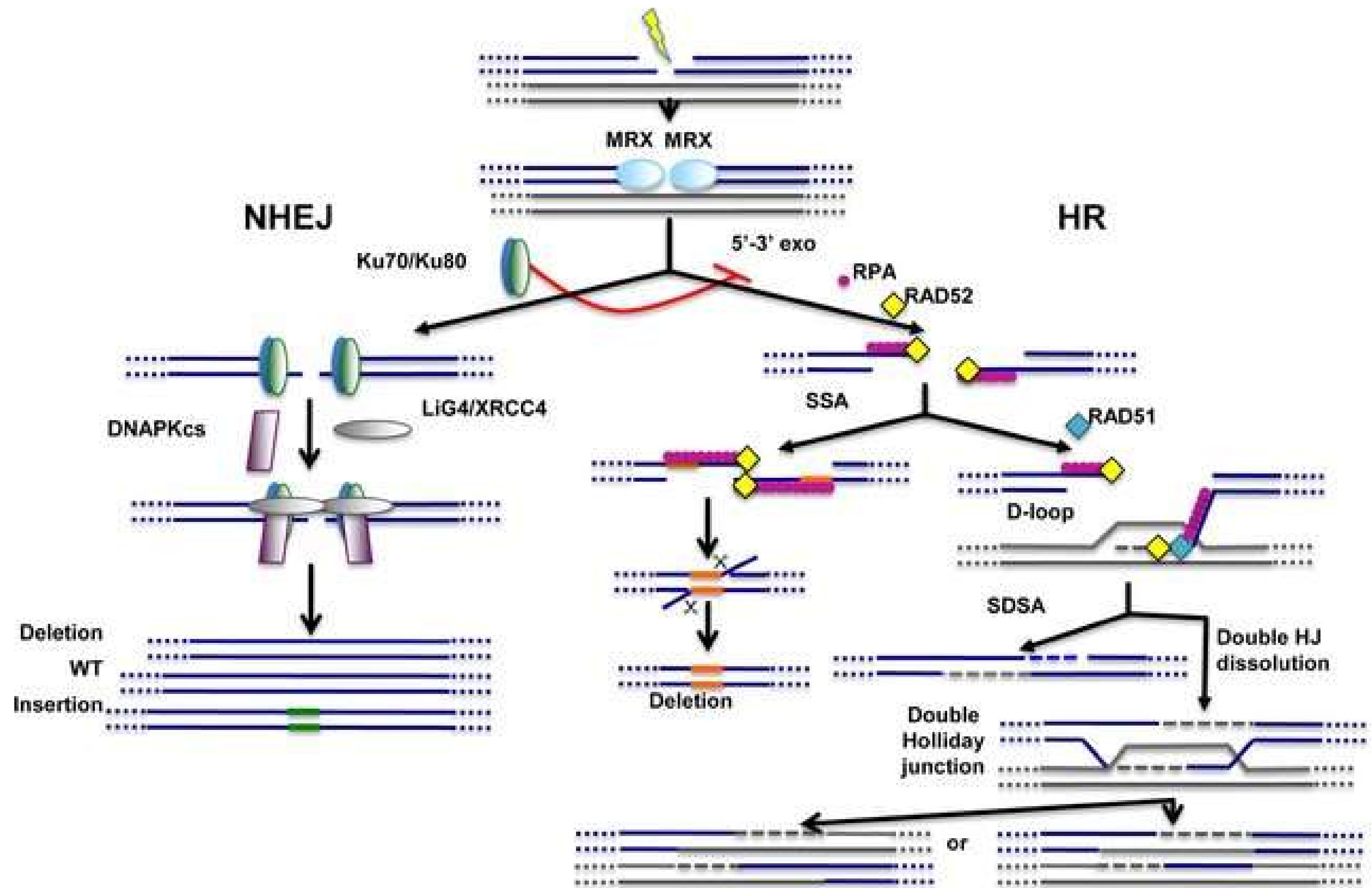
Schematic of Global Genome Nucleotide Excision Repair.



Main Pathways of DNA Double-Stranded Break Repair. Non-homologous end-joining (NHEJ) and homologous recombination (HR) pathways act competitively to repair DNA double-strand breaks (DSBs). Key players of NHEJ and HR are depicted. The MRE11/RAD50/XRS2 (MRX) complex is recruited very early at DNA ends and appears to play important roles for both NHEJ and HR. Ku70/Ku80 heterodimer is required for NHEJ and, through inhibition of DNA end resection (5'–3' exo), acts as a repressor of HR. Fidelity of NHEJ-dependent DSB repair is low and, most of the time, associated with nucleotide deletions and/or insertions at repair junctions. The common early step of HR-dependent mechanisms is the formation of ssDNA which is then coated by replication protein A (RPA). Single-strand annealing (SSA) mechanism requires the presence of direct repeats (shown in orange) on both sides of the break. SSA does not imply any strand invasion process and is therefore not dependent on RAD51 protein. Strand invasion and D-loop formation are however common steps of synthesis-dependent strand annealing (SDSA) and double Holliday junction (HJ) dissolution mechanisms. In the latter case, double Holliday junctions are resolved with or without crossing-over.



-
-


MRX MRX
NHEJ
HR
Ku70/Ku80
5'-3' exo
RPA
RAD52
LiG4/XRCC4
DNAPKcs
SSA
RAD51
D-loop
SDSA
Double HJ dissolution
Deletion
WT
Insertion
Deletion
Double Holliday junction
or

-